Über den Einfluß gebrauchter Nährlösungen auf Keimung und Entwicklung einiger Schimmelpilze

---

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Philosophischen Fakultät

der

Vereinigten Friedrich-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Otto Lutz

aus Pflugfelden, O.-A. Ludwigsburg

Halle a. S.

1909

Referent: Prof. Dr. E. Küster

Druck von A. Hopfer in Burg b. M.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung	5—7
Kapitel I: Keimung einiger Schimmelpilze auf gebrauchten Nährlösungen	8—39
Kapitel II: Myzelproduktion der Schimmelpilze auf gebrauchten Nährlösungen	40—46
Zusammenfassung	47

Beilage: 1 Tafel.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548112_0042

Über den Einfluß gebrauchter Nährlösungen auf Keimung und Entwicklung einiger Schimmelpilze.

Einleitung.

Die Nahrung, welche ein pflanzlicher Organismus im Verlauf seines Lebensprozesses aufnimmt, wird in der mannigfaltigsten Weise umgearbeitet. Die aufgenommenen Nährstoffe erleiden dabei häufig das wechselvollste Schicksal. Weitgehende chemische Operationen, Aufbau und Abspaltungen, je nach der Befähigung des einzelnen Lebewesens, sind notwendig, um durch Umsatz alle jene Körper zu schaffen, die wir als Stoffwechselprodukte bezeichnen.

Von Bakterien, Pilzen und andern Organismen, die wir auf dem Wege künstlicher Kultur auch nach der chemischen Seite ihrer Lebensvorgänge hin zu erforschen in der Lage sind, wissen wir, daß die von ihnen ausgeschiedenen Stoffe vielfach durch ihre Reaktion den Nährboden weitgehend beeinflussen. Viele Pilze bilden freie oder gebundene Säuren. Viele Bakterien kennen wir als Säure- und Alkalibildner. Von den Fermenten, welche durch Schimmelpilze oder Bakterien in großer Mannigfaltigkeit ausgeschieden werden, kommen vor allem diastatische, invertierende, glykosidspaltende und proteolytische in Betracht. Saccharomyceten und einige *Mucor*-Arten haben die Fähigkeit, Traubenzucker in Alkohol und Kohlensäure zu vergären vermittelst eines Gärungsenzyms, der Zymase (Buchner). Weiterhin gehören die Pigmente zahlreicher Mikroorganismen zu den auffallendsten Stoffwechselprodukten.

Endlich ist noch eine Gruppe von Stoffwechselprodukten zu erwähnen, über deren Natur wir nur sehr Fragmentarisches wissen: sie wirken hemmend oder fördernd auf das Wachstum der betreffenden Lebewesen ein und desgleichen auf andere Organismen, welche bei ihrer Entstehung nicht beteiligt waren.

Es ist wohl zu beachten, daß die Bildung aller dieser Endprodukte des Stoffwechsels quantitativ und qualitativ stark von den Außenverhältnissen (Ernährung, Temperatur, Licht usw.) abhängig ist.

In den folgenden Mitteilungen versuche ich, einige Beiträge zur Kenntnis der in Kulturlösungen gewisser Bakterien und Schimmelpilze als wachstumshemmend resp. -fördernd erkannten hypothetischen Stoffe zu geben.

Wir erwarten zunächst, daß während der Wachstumsperiode eines Organismus Stoffe angehäuft werden, welche dessen Weiterentwicklung hemmen[1]). Für einige Bakterien und Pilzspezies ist nach neueren Untersuchungen das Vorhandensein solcher wachstumshemmenden Stoffe nicht mehr zweifelhaft. Ihr Studium wird dadurch erschwert, daß sie durch Hitze zerstört oder vorübergehend beeinflußt werden. Rahn[2]) findet zwar in den Nährlösungen einiger Bakterien ein wachstumshemmendes Produkt, das durch Kochen nicht verändert wird. Dieser Stoff wird durch Äther nicht geschädigt, passiert das Tonfilter nicht, vielmehr wird er vom Filtermaterial adsorbiert.

Für manche Pilzspezies findet Küster[3]), daß die Sistierung des Wachstums vorherrschend auf den Einfluß dieser hypothetischen Stoffe zurückzuführen ist. Durch Kochen werden die Nährlösungen der alten Pilzkulturen wieder brauchbar. Selbst nach Zugabe neuer Nährstoffe zu den gebrauchten Flüssigkeiten ist nach Küster der Unterschied vor und nach dem Kochen erheblich.

Neben Stoffen, welche hemmend auf die Entwicklung der Organismen einwirken, sind bei einigen Bakterien und Pilzspezies auch solche von wachstumsförderndem Einfluß bekannt. Raulin[4]) gelangte durch seine Versuche zu dem Resultat, daß in sukzessiv folgenden, in gleichen Zeiträumen erzeugten Pilzernten die zweite Ernte der ersten quantitativ beträchtlich überlegen war. In Nikitinsky's[5]) Untersuchungen wurden diese Unterschiede dadurch noch deutlicher, daß er dem Pilz *(Aspergillus niger)* nach der ersten Ernte durch Zufuhr der verbrauchten Nährstoffe, deren Verlust während der ersten Kulturperiode er durch chemische Analyse feststellte, die Kulturbedingungen bot, welche der ersten Kultur „möglichst identisch" waren. Auf diese Weise fand er, daß im Laufe der Entwicklung in der Kulturflüssigkeit einige „die Wachstumsgeschwindigkeit beschleunigende Veränderungen" hervorgerufen wurden. Die Ursache dieser Wachstumsbeschleunigung sieht er in einer Reizwirkung dieser Stoffe analog dem Einfluß sehr verdünnter Metallsalzlösungen, z. B. von

[1]) Duclau, Trait. d. microb. I, 236; III, 519.

[2]) Über den Einfluß von Stoffwechselprodukten auf das Wachstum der Bakterien (Centralbl. f. Bakt. II, Bd. XVI).

[3]) Keimung und Entwicklung von Schimmelpilzen in gebrauchten Nährlösungen (Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch. 1908, Bd. XXVIa, Heft 3).

[4]) Études chimiques sur la végétation (Ann. d. sc. nat. XI, 1869, s. V).

[5]) Über die Beeinflussung der Entwicklung einiger Schimmelpilze durch ihre Stoffwechselprodukte — II, p. 33 (Pringsheim's Jahrb. f. wissensch. Bot., Bd. 40, Leipzig 1904).

Kupfer- oder Zinksulfat oder von Giften, welche die Pilze zu besonders üppigem Wachstum anregen. Quantitativ ist diese Beschleunigung sehr stark abhängig von der Qualität der Stickstoffquelle. Analoge Verhältnisse sind neuerdings für einige Bakterien[1]) und Hefen[2]) festgestellt worden. Die wachstumsfördernden Stoffe, welche Rahn in den Nährlösungen von Bakterien beobachtet, sind hitzebeständig.

Bei höheren Pflanzen sind durch einige neuere Untersuchungen ähnlich wirkende Stoffe von wachstumshemmendem Einfluß bekannt geworden. Sie werden durch Kochen zerstört, sowie durch Tierkohle und eine Reihe chemischer Substanzen (Calciumkarbonat, Ferrihydrat, Pyrogallol usw.) in ihrer Wirkung aufgehoben[3]).

Die Ergebnisse der seitherigen Forschungen über Natur und Eigenschaften dieser hypothetischen Stoffe sind demnach:

1. Von Bakterien und Pilzen werden wachstumshemmende resp. -fördernde Stoffe ausgeschieden.

2. Viele solcher Stoffe sind durch Kochen zerstörbar resp. vorübergehend in ihrer Wirkung zu beeinträchtigen.

Diese Tatsachen nahm ich zum Ausgangspunkt meiner Untersuchungen und setzte mir weiterhin die Aufgabe, die Einwirkung dieser Stoffe auf andere als die schon untersuchten Organismen zu prüfen, ihr Verhalten zu verschiedenen physikalischen Faktoren wie Licht, Wärme, Tonfilter, Sand, Tierkohle festzustellen und die Einflüsse der Ernährung, besonders der N-Ernährung auf ihre Entstehung klarzulegen. Falls sich nachweisen läßt, daß in gebrauchten Nährlösungen Stoffe existieren, welche die Keimung der Sporen des bereits tätig gewesenen Pilzes oder irgendeiner andern Pilzspezies in irgendeinem Sinne beeinflussen, so wäre damit noch nichts über die Einwirkung derselben Stoffe auf spätere Entwicklungsstadien des betreffenden Pilzes präjudiziert.

Es war daher meine Aufgabe, zu prüfen, wie jene hypothetischen Stoffe, mit welchen wir uns in folgendem beschäftigen wollen, einmal auf die Keimung einwirken und ferner, ob und in welchem Sinne sie auf spätere Stadien der Pilzentwicklung Einfluß haben.

Es ist mir an dieser Stelle eine angenehme Pflicht, dem verstorbenen Leiter des Botanischen Instituts der Universität Halle a. S., Herrn Prof. Dr. Noll, und Herrn Prof. Dr. Küster, auf dessen Veranlassung diese Arbeit entstand, meinen ergebensten Dank auszusprechen für das freundliche Entgegenkommen und die liebenswürdige, stets bereite Unterstützung, welche ich von diesen Herren erfahren durfte.

---

[1]) Rahn, Über den Einfluß von Stoffwechselprodukten auf das Wachstum der Bakterien (Centralbl. f. Bakt. II, Bd. XVI).

[2]) Thibaut, Centralbl. f. Bakt. II. Abt., IX, 1902.

[3]) Schneider & Howard, Some factors influencing soil fertility (U. S. Depart. of Agric. Washington 1907).

I. Kapitel.

Keimung einiger Schimmelpilze in gebrauchten Nährlösungen.

Methodisches.

An dieser Stelle habe ich auf einige Schwierigkeiten der Arbeitstechnik aufmerksam zu machen. Am besten empfiehlt sich folgendes Verfahren: Man entnimmt der gebrauchten Nährlösung einige Tropfen der klaren Flüssigkeit und überträgt sie auf einen Objektträger[1]). In solchen Fällen, in welchen die Reinkultur, die zur Verwendung kam, submers starke Myzelbildungen aufwies, filtrierte ich einen Teil möglichst aseptisch ab und entnahm dem Filtrat einige Tropfen. Gebrauchte Nährlösungen von sporentragenden Pilzen sind mit besonderer Vorsicht zu behandeln, da bei der Entnahme der klaren Flüssigkeit meist Sporen dieser Pilzspezies mit in die neue Kultur gelangen und eine Kontrolle der Keimung anderer Pilzspezies, die auf dem Objektträger zur Aussaat kommen, beeinträchtigen würden. In solchen Fällen habe ich die gebrauchte Lösung nicht filtriert, da die Sporen der meisten Pilzspezies das Papierfilter passieren. Aus Gründen, die in späteren Versuchen (XIII) dargelegt werden, mußte ich von einer Anwendung von Tonkerzen als Filtermaterial absehen.

Es ist, besonders bei Berücksichtigung der Art des Wachstums des die Flüssigkeit erschöpfenden Pilzes und dem Volumen seiner Kulturlösung, nicht gleichgültig, welcher Stelle des Substrats die Nährlösung entnommen wird. Die Erfahrung hat mich gelehrt, daß bei Pilzen, welche auf der Oberfläche der Kulturlösung eine zusammenhängende Myzeldecke entwickeln, die uns interessierenden Stoffe meist nur in der Region am lebhaftesten auftraten, auf welcher die Myzeldecke ruhte. Bei Anwendung von Reagiergläsern als Kulturgefäß, in welchen nach Ausbildung einer über die relativ sehr kleine Oberfläche ausgedehnten Myzeldecke die tieferliegenden Regionen von dem Pilz scheinbar nicht in Anspruch genommen wurden, ist dieser Erfahrung besondere Beachtung zu schenken. In den untern Schichten der Kulturflüssigkeit habe ich nie oder nur sehr selten das Vorhandensein von hitzeunbeständigen Stoffen von wachstumshemmendem resp. -förderndem Einfluß feststellen können, während in den Schichten unmittelbar unter der Myzeldecke die Anwesenheit jener Stoffe bei allen Versuchen sich bestätigte. — In der Regel bediente ich mich anderer Kulturgefäße und schüttelte nach Entstehung einer Myzel-

[1]) Bei allen derartigen Versuchen erwiesen sich Objektträger mit eingeschliffener Vertiefung als besonders geeignet. — Das Öffnen der gebrauchten Kulturflüssigkeiten geschieht am besten im sterilen Raum (Impfkasten). Die Sterilisation der Objektträger kann in der Flamme des Bunsenbrenners vorgenommen werden.

decke die Kulturlösung von Zeit zu Zeit kräftig um. Bei submerser Myzelbildung fallen diese Bedenken weg.

Die Objektträgerkulturen werden im feuchten Raum unter der Glasglocke aufbewahrt und dadurch im allgemeinen genügend vor Infektion geschützt.

Es ist ratsam, bei Aussaat der Sporen auf dem Objektträger für eine gleichmäßige Verteilung derselben im Flüssigkeitstropfen zu sorgen, da sie leicht (z. B. Sporen von *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Rhizopus nigricans*) an der Oberfläche schwimmen und durch die Nähe des freien Sauerstoffs andern Ernährungsbedingungen unterliegen als die innerhalb des Tropfens keimende Aussaat. So beobachtete ich in einzelnen Fällen ein ganz verschiedenes Verhalten der Sporen am Grunde des Kulturtropfens und der an der Oberfläche. Die letzteren keimten in der gebrauchten rohen und gekochten Flüssigkeit gleich flott und ohne jede Rücksicht auf etwaige wachstumshemmende resp. -fördernde Stoffe. Solche Kulturen habe ich entweder abgestellt oder aber die Befunde besonders vermerkt.

Zur Untersuchung verwandte ich Reinkulturen von *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium solani*, *Mucor Mucedo*, *Penicillium glaucum*, *Rhizopus nigricans*.

Mit Ausnahme von *Fusarium* gelangten die Sporen sämtlicher Pilzspezies der Reinkulturen zur Aussaat auf dem Objektträger. Als besonders geeignet erwiesen sich *Mucor Mucedo* und *Rhizopus nigricans* durch ihre Empfindlichkeit gegenüber den Stoffwechselprodukten zahlreicher Schimmelpilze, welche uns in den folgenden Erörterungen interessieren.

Die Nährlösungen der Reinkulturen enthielten als C-Quelle gewöhnlich 10—20 % Glukose oder 10 % Rohrzucker. Pepton fand als C-, N- und C- und N-Quelle zumal Anwendung. Als Nährsalze dienten 0,2 % Magnesiumsulfat ($MgSO_4$), 0,2 % Di-(resp. Mono-)kaliumphosphat (KH_2PO_4).

Die N-Quelle variierte ich in der mannigfaltigsten Weise. Die Ammoniaksalze der anorganischen und organischen Säuren, Kaliumnitrat, Asparagin, Pepton wurden als Stickstoffnahrung den Pilzspezies geboten. Organische Säuren (Zitronensäure, Weinsäure) empfahlen sich nicht.

Die Nährlösungen der Reinkulturen wurden teils durch 20 Minuten langes Kochen im Wasserbad, teils durch Behandlung im Autoklaven bei 3 Atm. (133,9° C.) sterilisiert. Erlenmeyer der verschiedensten Größen, Schalen, Dosen, Reagiergläser dienten als Kulturgefäße.

Es wurden nur Kulturen von gleichartigen Gefäßen zu Vergleichen herangezogen. Die Bedingungen, unter denen Vergleichskulturen entstehen, sind wahrscheinlich nicht unabhängig von ihren Kulturgefäßen.

Bei der Mitteilung meiner Ergebnisse will ich in der Weise verfahren, daß ich die bei den Versuchen leitenden Fragestellungen in den Vordergrund setze, die Ergebnisse meiner Versuche kurz zusammenfasse und jedesmal durch einige meinen Versuchsprotokollen entnommene Daten die geschilderten Keimungs- und Wachstumserscheinungen zu belegen versuche.

Zunächst soll von Versuchen die Rede sein, bei welchen die nämliche Pilzspezies zweimal zur Aussaat kam, indem z. B. *Aspergillus*-Sporen auf einer Nährlösung ausgesät worden waren, welche durch das Wachstum desselben *Aspergillus* bereits irgendwelche Veränderungen erfahren hatte.

I. Bei einer Reihe von Nährlösungen und bei verschiedenen Pilzen konnte ich feststellen, daß auf gekochter, gebrauchter Nährflüssigkeit die Sporen reichlicher oder schneller keimen oder ihre Hyphen sich normaler entwickeln als auf entsprechender ungekochter, gebrauchter Nährlösung. Diese Befunde entsprechen den von Küster[1]) mitgeteilten. Als Nährlösung dienten sowohl Medien von unbekannter und wechselnder chemischer Zusammensetzung (z. B. Pflaumensaft) als auch Lösungen von bekannter Zusammensetzung.

1. *Aspergillus niger.*

$2^1/_2$ Monate alte Kultur auf Pflaumensaft; 30° C. (Thermostat).

Nach 12 Stunden entwickeln einige Sporen in der rohen Flüssigkeit die ersten Ansätze zu Keimschläuchen; in der gekochten Nährlösung sind sämtliche Sporen kräftig gekeimt. Am 2. Tage läßt sich in beiden Lösungen lebhaftes Wachstum beobachten, in der gekochten Flüssigkeit kräftige Myzelbildung und Anlage von Fruktifikationsorganen. Die rohe Nährlösung zeigt dasselbe Wachstumsbild wie die gekochte nach 12 Stunden. Am 3. Tage treten in der gekochten Flüssigkeit makroskopisch deutlich sichtbare Myzelinseln auf, während in der rohen Nährlösung die Myzelbildung fortschreitet.

II. Es ist von vornherein wahrscheinlich, daß der Unterschied zwischen rohen und gekochten (gebrauchten) Nährlösungen verschieden ausfallen wird — zum mindesten in quantitativer Hinsicht —, wenn der Pilz, der die Nährlösung verändert und durch dessen Entwicklung jene hypothetischen Stoffe in die Nährlösung kommen, verschiedenen Ernährungsbedingungen ausgesetzt wird. Zur Prüfung dieser Frage kultivierte ich die Pilze auf Nährlösungen von verschiedener Zusammensetzung und insbesondere auf Kulturflüssigkeiten mit verschiedenen N-Quellen.

Es zeigte sich, daß bei Aussaat von *Mucor* die gekochte, gebrauchte Flüssigkeit für die Keimung stets günstiger ist als die entsprechende rohe, daß aber die Unterschiede ihres Verhaltens in rohen und gekochten Lösungen je nach der N-Ernährung ungleich deutlich ausfallen.

2. *Mucor Mucedo.*

20 Tage alte Kultur auf:

10 % Rohrzucker,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % Pepton.

Dunkelschrank; Zimmertemperatur.

---

[1]) Keimung und Entwicklung von Schimmelpilzen in gebrauchten Nährlösungen (Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch.; Jahrg. 1908, Bd. XXVIa, Heft 3).

Nach 12 Stunden sind die Sporen in der rohen Flüssigkeit noch völlig unverändert; in der gekochten Nährlösung bilden sie kräftiges, den ganzen Flüssigkeitstropfen durchwucherndes Myzel, vereinzelt bereits Fruchthyphen mit Sporangien. Am 2. Tage in der gekochten Flüssigkeit üppige Sporangienbildung, in der rohen sind die Sporen teils im Begriff zu keimen, teils bilden sie Myzel. Am 3. Tage verwischen sich die Unterschiede[1]).

3. *Mucor Mucedo.*

1 Monat alte Kultur auf:

10 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % KNO_3.

Dunkelschrank; Zimmertemperatur.

In der rohen Nährlösung sind die Sporen nach 24 Stunden teilweise sehr stark gequollen, am 2. und 3. Tage schreitet die Quellung fort, einzelne gehen zur Keimung über. Die Sporen in der gekochten Flüssigkeit sind am ersten Tage zur Hälfte stark gequollen, mindestens 20 % kräftig gekeimt. Am 2. Tage beobachte ich stark fortgeschrittene Keimung, kräftige Myzelbildung; am 3. Tage Anlage und Ausbildung von Fruchthyphen.

4. *Mucor Mucedo.*

1 Monat alte Kultur auf:

10 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % Asparagin.

Dunkelschrank; Zimmertemperatur.

Nach 24 Stunden sind in der gekochten Flüssigkeit sämtliche Sporen kräftig gekeimt, in der rohen Flüssigkeit werden bei ca. 1 % der Sporen die ersten kurzen Keimschläuche sichtbar. Am 2. Tage in der gekochten Nährlösung Myzel: abnorm dicke, sehr protoplasmareiche Hyphen, an den Enden stark dichotom verzweigt, Anlage von abnorm dicken Fruchthyphen; in der rohen Flüssigkeit beginnt Myzelbildung. Der abnorme Habitus prägt sich am 3. Tage mit fortschreitendem Wachstum stärker aus, vereinzelt bildet das Myzel kräftige Fruchthyphen. In der gekochten Nährlösung beobachte ich am 3. Tage üppige Sporangienbildung.

5. *Rhizopus nigricans.*

10 Tage alte *Rhizopus*-Kultur auf:

10 % Rohrzucker,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % weinsaures Ammon.

In der rohen Flüssigkeit quellen die Sporen nach 24 Stunden, vereinzelt lassen sich Ansätze zur Keimung beobachten; am 2. und 3. Tage kaum merkliche Fortschritte, ca. 20 % beharren in kümmerlichem Wachstum, die Mehrzahl der Sporen unverändert wie am 1. Tage. — In der gekochten Flüssigkeit beobachtete

[1]) Bei energischem Wachstum wie in dieser Kultur läßt sich wiederholt auch bei andern Nährlösungen die Beobachtung machen, daß die Unterschiede in der rohen und gekochten Flüssigkeit sich am Ende des 2. oder 3. Tages ausgleichen, in einzelnen Fällen sogar im Verlauf der Keimung umkehren.

ich nach 24 Stunden Keimung sämtlicher Sporen, am 2. und 3. Tage Myzelbildung: die Hyphen abnorm dick, an den Enden dichotom gegabelt, da und dort Ansätze kräftiger Fruchthyphen.

Lösungen, welche den Stickstoff in Form des Chlorammons enthalten, nehmen insofern eine besondere Stellung ein, als NH_4Cl an sich schon eine für die Entwicklung des von uns benützten *Mucor* wenig günstige Verbindung darstellt.

6. *Mucor Mucedo.*
2 Monate alte Kultur auf:
10 % Glukose.
0,2 % Nährsalze,
2 % NH_4Cl.
Zimmertemperatur; Dunkelschrank.
In der rohen Nährlösung folgendes Bild:
1. Tag: Sporen völlig unverändert.
2. Tag: Einzelne Sporen gequollen.
3. Tag: Die gequollenen Sporen keimen.

In der gekochten Nährlösung:
1. Tag: Zahlreiche Sporen kräftig gekeimt, normal entwickelte, kurze Keimschläuche wie auf frischer, ungebrauchter Nährlösung (vgl. 16).
2. Tag: Starkes Wachstum, Myzelbildung, lebhaft verzweigte Hyphen, an den Hyphenenden Plasmoptyse.
3. Tag: Starke Plasmoptyse, kugelige Schwellungen an den Hyphenenden, dort Septierung; Einschnürungen des Myzels, Verdickungen der Membran. Wachstum scheint nach Plasmoptyse der Hyphen sistiert. — In der frischen ungebrauchten Nährlösung beobachte ich geringere Keimung als in der gekochten gebrauchten und bessere als in der rohen gebrauchten (vgl. 16).

7. *Mucor Mucedo.*
2 Monate alte Kultur auf:
10 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % NH_4Cl.
In der rohen Flüssigkeit sind am 3. Tage nach Aussaat sämtliche Sporen stark gequollen. Die Keimung der Sporen in der gekochten Nährlösung beginnt schon am 1. Tage, am 3. stark entwickeltes Myzel, Plasmoptyse an den Hyphenenden sehr energisch.

III. Die bisher geschilderten und alle entsprechenden Versuche geben keinen Aufschluß darüber, ob die von einem Pilz produzierten Stoffe auch bei der Keimung irgendeiner andern Pilzspezies wirksam werden können. Im nachfolgenden schildere ich einige derjenigen Kulturen, bei welchen immer zwei oder mehrere verschiedene Pilzspezies zur Verwendung kamen, auf einer z. B. von *Aspergillus* bewachsenen Nährlösung *Mucor*, *Rhizopus*, *Botrytis*, *Penicillium* usw. Wir dürfen vorwegnehmen, daß die von bestimmten Pilzen produzierten wachstumshemmenden Stoffe, welche durch

Kochen zerstört werden, keine spezifische Wirkung haben in dem Sinne, daß sie immer nur auf Keimung und Wachstum derselben Pilzspezies Einfluß haben, sondern sie wirken auch auf die Sporen anderer Pilze. Allerdings erweisen sich die verschiedenen Schimmelpilze denselben Stoffen gegenüber verschieden empfindlich: *Mucor*, *Rhizopus* und *Botrytis* sind sehr empfindlich, *Aspergillus* und *Penicillium* dagegen sehr viel weniger; damit soll nicht gesagt sein, daß *Mucor* und *Rhizopus* in allen gebrauchten Nährlösungen die hier in Betracht kommenden Unterschiede zeigen müßten.

8. *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Mucor Mucedo*, *Rhizopus nigricans*.

2 Monate alte *Botrytis*-Nährlösung. — 1 % Pepton — alkal. Reaktion; Dunkelschrank; Zimmertemperatur. — Die ursprünglich hellgelbe Nährlösung war im Verlaufe der Kultur, ohne die Reaktion zu ändern, tief dunkelbraun geworden. Sowohl in frischen als in gebrauchten Peptonlösungen beobachtete ich regelmäßig etwa 3 Wochen nach Aussaat von *Botrytis*-Sporen Verfärbung der Kulturlösung. Der Pilz hatte eine dünne Myzeldecke gebildet und kräftig Konidien entwickelt.

Die ausgesäten Sporen von *Aspergillus niger* bleiben in der rohen und gekochten Flüssigkeit völlig unverändert.

Penicillium glaucum keimt am 2. und 3. Tage in beiden Nährlösungen gleich kümmerlich.

Mucor Mucedo.

In der rohen Flüssigkeit:

Nach 12 Std.: Sporen völlig unverändert.
Nach 24 Std.: Einzelne Sporen gekeimt.
Am 2. Tage: Die Mehrzahl der Sporen im Begriff zu keimen; einzelne bilden spärliches Myzel.
Am 3. Tage: Kräftige Myzelbildung.

In der gekochten Nährlösung:

Nach 12 Std.: Zirka 50 % der Sporen gekeimt, Myzelbildung beginnt.
Nach 24 Std.: Sämtliche Sporen gekeimt, stark entwickeltes Myzel.
Am 2. Tage: Fortgeschrittenes Wachstum, vereinzelt Fruchthyphen.
Am 3. Tage: Üppige Sporangienbildung.

Rhizopus nigricans deutet Unterschiede zugunsten der gekochten Flüssigkeit am 1. Tage an, am 2. Tage verwischen sie sich (vgl. XII, 38; XIII, 43).

9. *Aspergillus niger*.

3 Monate alte *Cladosporium*-Kultur auf:

10 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % KNO_3.

Dunkelschrank; Zimmertemperatur.

In der rohen Flüssigkeit entwickeln die Sporen nach 24 Stunden die ersten, koralloid verzweigten Keimschläuche; am 2. und 3. Tage kräftiges Weiterwachstum im abnormen Habitus.

Die Sporen in der gekochten Nährlösung keimen am 1. Tage sehr flott und bilden fast durchweg submerses Myzel, am 2. und 3. Tage Weiterwachstum vorherrschend in normalem Habitus, Myzel makroskopisch deutlich sichtbar, lebhafte Fruktifikation.

Mucor und *Rhizopus* keimten nicht.

10. *Mucor Mucedo — Rhizopus nigricans.*

2 Monate alte *Fusarium*-Kultur auf:

20 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % Asparagin.

Am 1. Tage bleiben die *Mucor*-Sporen in der rohen Flüssigkeit völlig unverändert, am 2. Tage keimen einzelne. In der gekochten Nährlösung läßt sich nach 24 Stunden Keimung sämtlicher Sporen beobachten, am 2. Tage starkes Weiterwachstum, zahlreiche Fruchthyphen.

Zirka 1 % der *Rhizopus*-Sporen keimt nach 24 Stunden in der rohen, in der gekochten Flüssigkeit gehen zirka 100 % zur Myzelbildung über; am 2. Tage kräftiges Weiterwachstum unter Beibehaltung der Unterschiede (XII, 37; XIII, 42).

Die beiden folgenden Beispiele lassen gleichzeitig die unterschiedliche Wirkung verschieden alter, gebrauchter Nährlösungen erkennen; wenn Nährlösungen von geringerem Alter sich als günstiger erweisen für die Keimung und Entwicklung der Pilzspezies als alte, so wird der Grund dafür wohl darin liegen, daß die alten Lösungen nur noch sehr geringe Mengen von brauchbaren Nährstoffen enthalten.

11. *Botrytis cinerea — Mucor Mucedo — Rhizopus nigricans.*

Saprolegnia-Lösung, 1 % Pepton. — Alter der Kultur 4½ Monate (Vol. 400 ccm, 0,212 g Trockensubstanz) — alkal. Reaktion (starke Biuretreaktion). — Dunkelschrank; Zimmertemperatur.

Teile des Filtrats blieben unverändert, wurden 20 Minuten lang im Wasserbad gekocht und bei 3 Atm. im Autoklaven behandelt.

Botrytis cinerea. — Nach 24 Stunden entwickeln die Sporen in der gekochten Flüssigkeit starkes Myzel mit zahlreichen Fruchthyphen; in der rohen Nährlösung beginnen einzelne Sporen zu keimen. Am 2. Tage in der rohen Nährlösung Myzel, vereinzelt Fruchthyphen, in der gekochten Konidien, das Myzel wird makroskopisch sichtbar. In dem im Autoklaven behandelten Filtrat verhielten sich die Sporen ebenso wie in der gekochten Flüssigkeit.

Mucor Mucedo. — Am 1. und 2. Tage bleiben die Sporen in der rohen Flüssigkeit völlig unverändert; in der gekochten und der im Autoklaven behandelten Nährlösung nach 24 Stunden energisches Wachstum, Fruchthyphenbildung — stellenweise starke Schwellungen des Myzels; am 2. Tage Sporangien.

Rhizopus nigricans. — Am 1. Tage beobachte ich in der rohen Flüssigkeit keine Keimung, am 2. Tage zirka 1 % gekeimt. In der gekochten und im Autoklaven behandelten Nährlösung am 1. Tage Myzel- und Sporangienbildung; am 2. Tage fortgeschrittenes Wachstum, üppige Fruktifikation — am Myzel nehme ich keine abnormen Schwellungen wahr.

12. *Mucor Mucedo — Rhizopus nigricans.*

2 Monate alte *Saprolegnia*-Kultur, ½ % Pepton — alkal. Reaktion (kräftige Biuretreaktion). — Zimmertemperatur; Dunkelschrank.

In der rohen Flüssigkeit keimen nach 24 Stunden die Sporen beider Pilzspezies kräftig und bilden Myzel; in der gekochten Nährlösung Myzel- und

Sporangienbildung. Am 2. Tage gleichen sich für *Rhizopus* die Unterschiede aus: in beiden Lösungen starke Sporangienbildung. Für *Mucor* werden die Unterschiede in der Sporangienbildung zugunsten der gekochten Flüssigkeit makroskopisch sichtbar, am 3. Tage gleichen sie sich aus.

IV. Peptonlösungen (meist 1 %), auf welchen *Saprolegnia mixta* gewachsen war, zeigten immer alkalische Reaktion. Es ergab sich hiernach die Frage, wie diese gebrauchten Nährlösungen auf Pilzsporen wirken, wenn der Lösung wechselnde Mengen freier Säure (HNO_3) zugesetzt werden. Es stellte sich heraus, daß bei geringem Säurezusatz, welcher gerade ausreichte, um bei der Probe mit Lackmus die Flüssigkeit als sauer erkennen zu lassen, die Unterschiede zwischen roher und gekochter Lösung deutlicher wurden als in den Vergleichskulturen mit gebrauchter alkalischer Flüssigkeit. Die Erklärung hierfür liegt in dem Verhalten der verwendeten Pilzspezies gegenüber schwach sauren Nährmedien im allgemeinen. In den stark sauren Lösungen beobachtete ich keine Keimung.

13. *Botrytis cinerea* — *Penicillium glaucum.*

$4^1/_4$ Monate alte *Saprolegnia*-Lösung, 1 % Pepton. — Dunkelschrank; Zimmertemperatur.

In der gekochten Flüssigkeit entwickeln die Sporen beider Pilzspezies Myzel und Fruktifikationsorgane; in der rohen Nährlösung kümmerliches Myzel. — Am 2. und 3. Tage werden die Unterschiede makroskopisch deutlich. (*Mucor* und *Rhizopus* siehe 14.)

V. Wir vergleichen ferner nicht nur die rohe und gekochte gebrauchte Nährlösung miteinander, sondern als dritte Lösung mit den beiden andern noch eine ungebrauchte, frisch angefertigte Kulturflüssigkeit; wirkt diese dank ihrem reichlichen Gehalt an Nährstoffen durchweg günstiger als die gebrauchte, gleichviel ob diese roh oder gekocht zur Verwendung kommt, oder wird durch das Wachstum eines Pilzes die Nährlösung „verbessert“?

Es erscheint von vornherein keineswegs ausgeschlossen, eine solche Verbesserung der Nährlösung auch hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Keimung von Pilzsporen anzunehmen, nachdem Nikitinsky nachgewiesen hat, daß gebrauchte Nährlösungen auf die Myzelproduktion günstiger wirken als ungebrauchte.

14. *Mucor Mucedo* — *Rhizopus nigricans* auf derselben *Saprolegnia*-Lösung wie 13.

Die *Mucor*-Sporen keimen am 1. Tage in der rohen und gekochten Flüssigkeit ohne merkliche Unterschiede; am 2. Tage in der gekochten Nährlösung erheblich stärkere Myzelbildung als in der rohen, Habitus normaler, Septierung der Hyphen vereinzelter, weniger kugelige Blasen; weniger dicke Hyphen als in der rohen Flüssigkeit.

Die frische Nährlösung $>$[1]) roh, $<$[2]) gekocht.

---

[1]) $>$ = besser als.

[2]) $<$ = schlechter als.

Die *Rhizopus*-Sporen treiben in der roh en Flüssigkeit am 1. Tage kurze Keimschläuche, in der gekochten beobachte ich kräftige Sporangienbildung; am 2. Tage in der roh en Nährlösung Myzel, in der gekochten fortgeschrittenes Wachstum.

Die frische (alkalische und angesäuerte) Nährlösung wesentlich > roh (alkalisch und angesäuert), sehr viel < gekocht (alkalisch und angesäuert).

15. *Aspergillus niger* — *Botrytis cinerea* — *Penicillium glaucum* — *Mucor Mucedo* — *Rhizopus nigricans.*

2 Monate alte *Mucor*-Kultur auf:

10 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % NH_4Cl.

Dunkelschrank; Zimmertemperatur.

Aspergillus, Botrytis, Penicillium keimten in der roh en Nährlösung nahezu ebenso energisch als in der gekochten, Fruchthyphenbildung trat in dieser am 1. und 2. Tage früher ein — am 3. Tage verwischen sich die Unterschiede.

Mucor Mucedo. — Prozentsatz der gekeimten Sporen am 1. Tage in der gekochten Flüssigkeit höher als in der roh en, Wachstum fortgeschrittener, normale lange Keimschläuche — in der roh en Flüssigkeit vorherrschend abnormer Habitus. Am 2. Tage beiderseits lebhaftes Weiterwachstum unter Beibehaltung der Unterschiede. Hyphen in der roh en Nährlösung durchweg anormaler, Plasmoptyse lebhafter, Septierung fortgeschrittener als in der gekochten. Am 3. Tage lebhaftes Weiterwachstum, Sporangienbildung. Die Hyphenenden stark dichotom verzweigt; in der gekochten Flüssigkeit dagegen überwiegt bei fortgeschrittenem Wachstum der abnorme Habitus, zugleich sehr starke Plasmoptyse. Die frische ungebrauchte Nährlösung ist für die Keimung ebenso oder weniger geeignet als die roh e und gekochte gebrauchte Flüssigkeit.

Rhizopus nigricans. — Nach 24 Stunden in der roh en Nährlösung sämtliche Sporen gekeimt, Hyphenenden stark gequollen, vereinzelt Plasmoptyse, durchweg abnormer Habitus; am 2. und 3. Tage kümmerliches Weiterwachstum, sehr lebhafte Plasmoptyse, Myzel stellenweise stark aufgeblasen. — In der gekochten Flüssigkeit kräftigeres Wachstum, Habitus merklich normaler, weniger starke Plasmoptyse.

In der ungebrauchten frischen Nährlösung beobachte ich nach 24 Stunden kurze abnorme Keimschläuche, am 2. und 3. Tage scheint das Wachstum sistiert.

16. *Mucor Mucedo* — *Rhizopus nigricans.*

2 Monate alte *Rhizopus*-Lösung:

10 % Glukose.
0,2 % Nährsalze,
2 % NH_4Cl.

Dunkelschrank; Zimmertemperatur.

Nach 24 Stunden verhalten sich die Keimschläuche der *Mucor*-Sporen in der roh en (gebrauchten), frischen (ungebrauchten) und gekochten Flüssigkeit wie 1 : 10 : 30 (Messung mit dem Mikrometer).

Die *Rhizopus*-Aussaat beginnt die Keimung am 2. Tage nicht so energisch als die *Mucor*-Sporen, aber doch mit merklicher Ausprägung der angegebenen Unterschiede (vgl. 6).

Fassen wir die Resultate der drei letzten Beispiele kurz zusammen:

	Pilz der I. Aussaat	Pilz der II. Aussaat	Vergleichsresultate
14	*Saprolegnia mixta*	*Mucor Mucedo* *Rhizopus nigricans*	gekocht > frisch > roh
15	*Mucor Mucedo*	*Mucor Mucedo* *Rhizopus nigricans*	gekocht > roh > frisch
16	*Rhizopus nigricans*	*Mucor Mucedo* *Rhizopus nigricans*	gekocht > frisch > roh

Wie die Zusammenfassung zeigt, wirkt die gekochte gebrauchte Nährlösung in allen Fällen am besten, in einem Falle ist die frische Lösung von allen drei Varianten die ungünstigste. Für diese Beobachtung eine befriedigende Erklärung zu finden, wird nicht leicht sein. Man könnte vermuten, daß durch das Wachstum der Pilze in der Nährlösung nicht nur wachstumshemmende Stoffe, welche durch Kochen zerstört werden und die gekochte gebrauchte der rohen gebrauchten überlegen machen, sondern noch andere Stoffwechselprodukte entstehen, welche wachstumsfördernd wirken, und könnte durch sie die Inferiorität der frischen Kulturlösung gegenüber den gebrauchten Varianten erklärt werden.

NH_4Cl nimmt auch hier wieder eine besondere Stellung ein insofern, als frische Nährlösungen, welche reichliche Mengen dieser dem Wachstum vieler Pilze nicht günstigen N-Verbindungen enthalten, ceteris paribus werden ungünstiger wirken müssen als gebrauchte Nährlösung, deren Chlorammongehalt unter dem Einfluß des wachsenden Pilzes sich mehr oder weniger vermindert hat.

VI. Der Unterschied zwischen rohen und gekochten Nährlösungen kann sich bei Verwendung bestimmter Materialien in ganz anderem Sinne kundgeben als in den bisher erläuterten Beispielen insofern, als in manchen Fällen beim Vergleich der rohen (gebrauchten) und gekochten (gebrauchten) die erstere den Pilzsporen eine bessere Keimung gestattet. Wenn wir vorhin annahmen, daß durch das Wachstum des Pilzes hemmende Stoffe entstehen, welche durch Kochen zerstört werden, müssen wir jetzt weiterhin annehmen, daß in andern Lösungen wachstumsfördernde Stoffe sich bilden, die ebenfalls durch Kochen zugrunde gehen, so daß sie in der gebrauchten Nährlösung nicht mehr ihre Wirkung zeigen können.

17. *Botrytis — Mucor — Rhizopus.*

$5^1/_2$ Monate alte *Saprolegnia*-Nährlösung, 1 % Pepton, alkalische Reaktion; Dunkelschrank; Zimmertemperatur.

Botrytis: Am 1. Tage in der rohen Flüssigkeit lebhafte Myzelbildung, zahlreiche Lufthyphen; in der gekochten: Myzelbildung eingeleitet, aber erheblich weniger fortgeschritten.

Mucor: In der rohen Nährlösung am 1. Tage Keimung sämtlicher Sporen, stark entwickeltes Myzel; in der gekochten keimen vereinzelte Sporen.

Rhizopus: In der rohen Flüssigkeit enormes Wachstum, zahlreiche Sporangien; in der gekochten: Keimung eingeleitet, kurze Keimschläuche.

Am 2. Tage prägen sich für sämtliche Pilzspezies die Unterschiede zugunsten der rohen Nährlösung im Weiterwachstum noch deutlicher aus.

Ähnliches beobachtete ich gelegentlich bei *Saprolegnia*-Lösungen, welche über 5 Monate alt waren.

18. *Mucor — Rhizopus.*

2 Monate alte *Rhizopus*-Kultur auf Pflaumensaft; saure Reaktion; Zimmertemperatur; Dunkelschrank.

Mucor: Nach 12 Stunden in der rohen Flüssigkeit starkes Wachstum, zahlreiche Fruchthyphen; in der gekochten Flüssigkeit sämtliche Sporen gequollen, vereinzelt gekeimt. Am 2. Tage zirka 50 % gekeimt und kümmerlich gewachsen; in der rohen Nährlösung kräftige Sporangienbildung.

Rhizopus: Nach 12 Stunden in der rohen Flüssigkeit Myzelbildung stark fortgeschritten; in der gekochten Flüssigkeit Quellung der Sporen. Am 2. Tage keimen die gequollenen Sporen in der gekochten Nährlösung; in der rohen Fruchthyphen, vereinzelt Sporangien[1]).

19. *Mucor Mucedo — Rhizopus nigricans.*

2 Monate alte *Aspergillus*-Lösung:

10 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % KNO_3.

30° C. (Therm.); bei Verwendung stark saure Reaktion.

Mucor: Sämtliche Sporen nach 24 Stunden in der rohen Flüssigkeit gekeimt; in der gekochten einzelne gequollen, zirka 1 % beginnt zu keimen. Am 2. Tage in der rohen Nährlösung Fruchthyphen, starkes Myzel; in der gekochten beginnende Myzelbildung.

Rhizopus: In der rohen Nährlösung nach 24 Stunden energische Keimung sämtlicher Sporen; in der gekochten weder Keimung noch Quellung. Am 2. Tage sämtliche Sporen gekeimt, kurze Keimschläuche; in der rohen Flüssigkeit kräftige Myzelbildung.

20. *Mucor Mucedo.*

6 Monate alte *Cladosporium*-Lösung:

15 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,25 % Zitronensäure.

---

[1]) Bei der Entnahme der klaren Nährlösung ist besondere Vorsicht geboten, da leicht Sporen der gebrauchten Flüssigkeit in die neue Kultur gelangen können. Vergleichskulturen der gebrauchten Kulturlösung blieben ungeimpft und zeigten auch in den meisten Fällen weder Keimung noch Wachstum. Zur Vorsicht kontrolliert man die Objektträgerkulturen vor der Impfung unter dem Mikroskop.

Zimmertemperatur; Dunkelschrank. Vor I. und II. Aussaat saure Reaktion. Die Sporen entwickeln schon nach 24 Stunden in der rohen Flüssigkeit Myzel, am 2. Tage Sporangien; in der gekochten bleiben sie am 1. und 2. Tage völlig unverändert.

21. *Rhizopus nigricans.*

3 Monate alte *Aspergillus*-Kultur:

10 % Rohrzucker,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % NH_4Cl.

30° C. (Therm.); bei Verwendung saure Reaktion.

Am 1. Tage in der rohen Nährlösung starke Myzelbildung; in der gekochten Anfangsstadium der Keimung. Am 2. Tage in der rohen Flüssigkeit fortgesetzt starkes Wachstum, abnormes Myzel; in der gekochten kümmerliches Wachstum, keine Myzelbildung.

Bei einem Vergleich der Kulturen 17 einerseits und 18—21 andererseits beobachten wir, daß in allen Fällen, ausgenommen in 15, die Nährlösung mehr oder minder stark saure Reaktion zeigt. Vergleichskulturen mit alkalisch reagierender gebrauchter Kulturflüssigkeit, welche während der Entwicklung des auf ihr ausgesäten Pilzes denselben Bedingungen unterworfen waren wie 18—21, ergaben regelmäßig das entgegengesetzte Resultat, d. h. durch Kochen wurde die alte Lösung brauchbarer. Demnach ist es wahrscheinlich, daß unter dem Einfluß der Säure der Stoffumsatz des Organismus zur Abspaltung wachstumsfördernder Stoffe führt, welche ebenfalls durch Kochen verändert werden.

VII. Der Vorsprung, welchen die Entwicklung der Pilzsporen in gekochten gebrauchten Nährlösungen so oft zeigt (vgl. 1—14), wechselt mit der Zusammensetzung der Kulturflüssigkeit außerordentlich.

Vielfach tritt in der rohen gebrauchten Flüssigkeit überhaupt keine Keimung ein, während die gekochte sich als brauchbar erweist (vgl. 3, 6, 7, 11—20, 21).

In andern Fällen ist, dank dem reichlichen Vorhandensein an Nährstoffen, die gebrauchte Lösung überhaupt für Keimung und Weiterentwicklung des Pilzes gut geeignet. Die Unterschiede zugunsten der gekochten resp. rohen Flüssigkeit drücken sich darin aus, daß in der einen immer nur Myzelbildung, in der andern kräftige Fruktifikation sich einstellt und die Unterschiede schon z. T. makroskopisch deutlich werden (vgl. 4, 5, 10, 12, 13—17, 19).

Endlich beobachte ich hier und da nur eine vorübergehende Schädigung dieser Stoffe, derart, daß ihre hemmende resp. fördernde Wirkung auf das Wachstum sich erst nach Ablauf einer 24stündigen Keimperiode äußert, im Verlauf der Weiterentwicklung aber in der rohen bzw. gekochten Lösung das Wachstum so energisch gefördert wird, daß die Unterschiede aufgehoben werden (vgl. 2, 8, 9, 12).

Auch die Qualität des Wachstums ist zu berücksichtigen. In gekochten Nährlösungen ist das Wachstum und die Form der Hyphen vielfach normal, in der entsprechenden rohen nehmen die vegetativen Myzelteile abnormes Aussehen an. Bei vorübergehender Beeinflussung der hypothetischen Stoffe zeigt sich häufig in den gekochten Nährlösungen ein stark beschleunigter Übergang der abnormen Myzelschläuche zu normalem Wachstum. Die Abweichung der Myzelbeschaffenheit vom normalen Befund lag darin, daß der Wuchs des Myzels gedrungen blieb, viele Seitenzweige zur Entwicklung kamen und alle Hyphen knorrige, koralloide, unregelmäßig gezeichnete Umrisse aufwiesen (*Aspergillus*, *Botrytis*; vgl. 9). Bei *Mucor* und *Rhizopus* bestanden die Abweichungen vom Normalen darin, daß die Hyphen unregelmäßige Auftreibungen und Einschnürungen annahmen, mehr oder weniger zahlreiche Querwände entwickelten oder sich vollends gemmenartig septierten, oder das Längenwachstum der Hyphen verlangsamt wurde und anstatt der monopodialen Verzweigung ausgesprochen dichotome Bilder zustande kamen (vgl. 4, 5, 6, 11, 14, 15, 21).

Nährlösungen, welche auch in ungebrauchtem Zustande schon abnormales Wachstum der Hyphen hervorrufen (Chlorammonnährlösungen), können selbstverständlich zur Prüfung der hier berührten Frage nicht herangezogen werden.

VIII. Wenn sich zeigen läßt, daß die uns interessierenden Stoffe durch Kochen zerstört werden, so liegt die Annahme nahe, daß es sich bei ihnen vielleicht um fermentähnliche Körper handelt. Fermente werden aber nicht erst durch Temperaturen von 100° C. „getötet“, sondern vielfach schon bei sehr viel niedrigeren Graden. Pepsin und Pepsinase gehen schon bei 55—60° C. zugrunde; Invertase, Laccase u. a. verlieren bei 70° C. ihre Aktivität[1, 2]).

In Anbetracht dieses verschiedenartigen Verhaltens der Fermente war es notwendig zu prüfen, wie die in den Pilznährlösungen vorliegenden Stoffe Hitzegrade von 60—100° C. ertragen würden.

22. (Vorversuch) *Botrytis — Mucor — Rhizopus.*

$3^1/_2$ Monate alte *Saprolegnia*-Lösung (1% Pepton): Zimmertemperatur; Dunkelschrank; alkalische Reaktion.

Botrytis. 1. Tag: In der rohen Flüssigkeit keimen die Sporen teilweise; in der gekochten kräftiges Wachstum, energische Fruchthyphenbildung. 2. Tag: Weiterwachstum unter Beibehaltung der Unterschiede zugunsten der gekochten Lösung.

Mucor. 1. Tag: In der rohen Flüssigkeit die ersten kurzen Keimansätze; in der gekochten überall kräftige Sporangienbildung. 2. Tag: Energisches

[1]) Green-Windisch, Die Enzyme (Berlin 1901); dort weitere Literaturangaben.

[2]) Czapek, Biochemie der Pflanzen (Jena 1901); I, § 5.

Weiterwachstum — in der rohen Nährlösung submerses Myzel; in der gekochten fortgeschrittene Fruktifikation.

Rhizopus. In der rohen Nährlösung erst am 2. Tage Keimung; in der gekochten nach 24 Stunden kräftige Myzelbildungen, am 2. Tage Sporangien.

Zur Prüfung der Frage, wie die in Erörterung stehende *Saprolegnia*-Lösung, deren Gehalt an wachstumshemmenden, durch Kochen zerstörbaren Stoffen der Vorversuch ergeben hat, sich hohen Temperaturen gegenüber verhält, verfuhr ich folgendermaßen: Ein Teil der rohen Flüssigkeit (zirka 5 ccm) wurde 20 Minuten lang bei 60, 80 und 100° C. während 1, 3, 5, 10 und 20 Minuten im Wasserbad behandelt. Ich habe zu diesen Versuchen teils dieselbe Nährlösung benützt und jeweils die Flüssigkeitsmenge für die Tropfkulturen entnommen, teils kleinere Portionen der gebrauchten Flüssigkeit in besonderen Reagensgläsern den angegebenen Temperaturen resp. Zeiten ausgesetzt. Ich beobachte folgendes:

Botrytis cinerea.

	1. Tag:	2. Tag:
60° C.	Keimung eingeleitet, vielfach etwas stärker als in der rohen Flüssigkeit	kräftig weitergewachsen wie in der rohen Flüssigkeit.
80° C.	Sämtliche Sporen gekeimt, Myzelbildung fast ebenso fortgeschritten wie in der gekochten Nährlösung, geringere Fruchthyphenbildung	Wachstum und Fruchthyphenbildung ebenso wie in der gekochten Flüssigkeit.
1′	Keimung beginnt	fortgeschritten.
3′, 5′, 10′	Dasselbe fortgeschrittene Wachstum wie in der gekochten Flüssigkeit	wie in der gekochten Nährlösung.

Mucor Mucedo.

	1. Tag:
60° C.	Sporen größtenteils unverändert, einzelne beginnen zu keimen (s. rohe Flüssigkeit).
80° C.	Sämtliche Sporen gekeimt, keine Sporangien — im wesentlichen derselbe Fortschritt gegenüber 60° wie in der gekochten Flüssigkeit gegenüber der rohen.
1′, 3′, 5′, 10′	Mit zunehmender Zeitdauer stärkeres Wachstum, merkliche Grenze der Einwirkung zwischen 1′ und 3′.

Rhizopus nigricans.

	1. Tag:	2. Tag:
60° C.	Sporen größtenteils unverändert, zirka 5% Ansätze zu Keimschläuchen	sämtlich gekeimt u. gewachsen, Myzelbildung.

	1. Tag:	2. Tag:
80° C.	Keimung und Wachstum wie in der gekochten Flüssigkeit	Sporangien.
1′	Dasselbe wie in gekochter Nährlösung	Myzelbildung
3′		Fruchthyphen
5′		einzelne Sporangien
10′		kräftige Sporangienbildung.

Bei allen drei Pilzen liegt eine deutliche Grenze der Temperatureinwirkung zwischen 60 und 80° C. Es ist zu beachten, daß die Nährlösung schon durch Temperaturen von 60° verändert wird. Bezüglich der Zeitdauer beobachte ich eine Verbesserung durch 2′ langes Kochen. *Rhizopus* keimt am 1. Tage anscheinend ohne Rücksicht auf die Zeitdauer in sämtlichen Kulturen gleich kräftig, mit fortgeschrittenem Wachstum prägen sich die Unterschiede deutlicher aus[1]).

23. *Aspergillus* — *Rhizopus*.

2 Monate alte *Cladosporium*-Lösung:

10 % Rohrzucker,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % KNO_3.

Vorversuch:

Die *Aspergillus*-Sporen keimen in der gekochten Nährlösung am 2. Tage sehr energisch, am 3. Tage Myzel und Fruchthyphen; in der rohen Flüssigkeit beginnt die Keimung am dritten Tage.

Rhizopus bleibt in der rohen Flüssigkeit am 1. Tage völlig unverändert, am 2. quellen die Sporen sehr stark, 50 % beginnen zu keimen; in der gekochten Nährlösung nach 24 Stunden enormes Wachstum, Fruchthyphen, am 2. und 3. Tage Sporangien.

Hauptversuch:

Aspergillus.

	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
60° C.	Keine Keimung	teilweise stark gequollen, einzelne dichotom verzweigte Keimschläuche	kräftig gewachsen, Myzel, Fruchthyphen.
80° C.	Vereinzelt gequollen	sämtlich gekeimt, dichotom gegabelte Keimschläuche	starkes Wachstum, energische Fruchthyphenbildung.
1′	Keine Keimung	einzelne gekeimt	sämtlich gekeimt, normaler Habitus.
3′	Keine Keimung	einzelne gekeimt	Myzelbildung ebenso fortgeschritten oder kümmerlicher als 1′.
5′	Keine Keimung	einzelne gekeimt	

Die Lösung wird schon bei 60° und durch Kochen vor 1′ merklich verbessert.

[1]) Die Kulturen wurden von Stunde zu Stunde kontrolliert.

Rhizopus.

	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
60° C.	Gekeimt	50% kurze Keimschläuche, 50% kräftig gewachsen wie 80° C.	Unterschiede ausgeglichen.
80° C.	Ebenso wie in der gekochten Flüssigkeit	enorm gewachsen, lange normale Keimschsäuche	
1′	Teils stark gequollen, teils gekeimt (s. gek. Flüssigkeit)	teils kurze Keimschläuche, teils kräftiges Wachstum	Unterschiede beibehalten.
3′	Teils stark gequollen, teils gekeimt (s. gek. Flüssigkeit)	kräftig gewachsen, Myzel	
5′	Vielleicht besser als 1′ und 3′	Anlage von Fruchthyphen (wie gek.)	
10′	Wie in der gekochten Flüssigkeit.		

Die Grenze der Einwirkung liegt bei Temperaturen schon vor 60° resp. zwischen 60° und 80° (Asp.). Die Erhöhung der Temperatur wird in den einzelnen Kulturen stark markiert; bezüglich der Zeitdauer macht sie ihren Einfluß schon vor 1′ geltend. Durch 5′ langes Kochen wird die Lösung in ebenso wirkungsvoller Weise verbessert als durch 20′ langes.

Im allgemeinen ergeben diese Versuche, daß die hypothetischen Stoffe unserer gebrauchten Lösungen schon durch Temperaturen von 60—80° stark beeinträchtigt werden. Kochen bei 80° C. genügt in den meisten Fällen, um ihre Wirkung völlig aufzuheben. In siedendem Wasser gehen bereits nach 1 Minute in den gebrauchten Nährlösungen Veränderungen vor sich, welche die Flüssigkeit merklich brauchbarer für Keimung und Entwicklung machen.

Bei Versuchen mit Kulturlösungen, in denen Stoffe von wachstumsförderndem Einfluß festgestellt wurden (vgl. 15—19), ergaben sich dieselben Resultate wie in 22, 23 — in umgekehrtem Sinne. Die alte Lösung wurde in demselben Maße — im wesentlichen bei denselben Hitzegraden — durch Kochen für die Keimung neu ausgesäter Sporen unbrauchbarer, wobei die Erhöhung der Temperatur ebenso einer Verschlechterung der Lösung entsprach wie in 22, 23 einer Verbesserung derselben.

Fällungen mit Alkohol und Ammonsulfat ergaben folgende Resultate:

Aspergillus-Lösung:

10% Glukose,
0,2% Nährsalze,
0,5% KNO_3.

Botrytis-Kultur auf derselben Nährlösung; Alter der Kulturen 9 Wochen.

Mit absolutem Alkohol tritt in beiden Kulturlösungen ein fein verteilter Niederschlag ein, mit Ammonsulfat erhielt ich keine Resultate. Versuche, ob der durch

Alkoholbehandlung entstehende Niederschlag die uns interessierenden Stoffwechselprodukte enthält oder nicht, wurden in Anbetracht der Feinheit der Präzipitation und der geringen Mengen nicht angestellt.

IX. Es ist weiterhin bekannt, daß einzelne Fermente oder fermentähnlich wirkende Stoffe, die durch Kochen wirkungslos geworden sind, beim Stehen an der Luft nach einiger Zeit wieder ihre Fähigkeit regenerieren[1]).

Es war hiernach zu prüfen, ob auch die in den gebrauchten Nährlösungen enthaltenen, vielleicht fermentähnlichen Stoffe, welche nach Erhitzen auf hohe Temperaturgrade ihre Wirkungsfähigkeit verlieren, diese wieder zu regenerieren imstande sind. In der Tat ließ sich zeigen, daß

1. gekochte gebrauchte Nährlösung, in welcher die Keimung besser resp. schlechter vor sich geht als in der rohen gebrauchten, nach einigen Tagen (2, 5 und 8; im Dunkelschrank) wieder schlechter resp. besser wurde.

24. *Botrytis.*

3 Monate alte *Saprolegnia*-Lösung (1 % Pepton); Dunkelschrank; Zimmertemperatur. Die gekochte Lösung blieb 8 Tage dunkel stehen.

In der rohen Flüssigkeit am 1. Tage Keimung, am 2. Myzelbildung; in der gekochten Myzel- und Fruchthyphenbildung. In der 8 Tage dunkel gestellten gekochten Nährlösung dasselbe kümmerliche Wachstumsbild wie in der rohen (s. 29).

25. *Mucor — Rhizopus.*

5 Monate alte *Saprolegnia*-Lösung (1 % Pepton); Dunkelschrank; Zimmertemperatur. Die rohe und gekochte Flüssigkeit blieb 5 Tage dunkel stehen.

In der rohen Nährlösung entwickeln die Sporen beider Pilze nach 24 Stunden Sporangien; in der gekochten die ersten Myzelbildungen. Stehenlassen verändert die rohe gebrauchte Flüssigkeit, die gekochte ist dagegen brauchbarer geworden; nach 24 Stunden entwickelt ihre Aussaat Sporangien wie in der rohen Flüssigkeit.

2. Die gekochte gebrauchte Nährlösung verändert sich nicht, wenn sie einige Tage (2 und 5) im Dunkelschrank stehen blieb.

26. *Mucor — Rhizopus.*

$5^1/_2$ Monate alte Fusarkultur auf:

20 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % NH_4Cl.

Die Sporen beider Pilze keimten in der gekochten Flüssigkeit am 1. und 2. Tage erheblich besser als in der rohen. Die gekochte Lösung blieb, nachdem sie 2 und 5 Tage im Dunkelschrank stand, völlig unverändert, also gleich geeignet für die Keimung.

27. *Mucor — Rhizopus.*

$3^1/_2$ Monate alte *Saprolegnia*-Lösung (1 % Pepton); Dunkelschrank; Zimmertemperatur.

---

[1]) Porodko, Zur Kenntnis der pflanzlichen Oxydasen (Beih. z. Botan. Centralbl. Bd. XVI, p. 5).

Mucor beginnt in der rohen Flüssigkeit nach 24 Stunden zu keimen (zirka 1 %); in der gekochten Myzel und Sporangien. Für *Rhizopus* treten diese Unterschiede erst am 2. Tage in Erscheinung. Die gekochte Nährlösung, welche 5 Tage dunkel stand, erwies sich ebenso brauchbar als die gekochte, welche unmittelbar nach dem Kochen zur Verwendung kam.

Dieselben Resultate erzielte ich mit Lösung 12, 24 für *Mucor*, *Rhizopus* u. a.

3. Die gekochte gebrauchte Nährlösung, welche durch Kochen brauchbarer geworden war als die rohe, zeigte sich nach Stehenlassen in dem zerstreuten Licht des Laboratoriums in den meisten Fällen bei abermaliger Neuaussaat besser geeignet als die gebrauchte Nährlösung unmittelbar nach dem Kochen. Ich beschränke mich darauf, hier die Resultate meiner Beobachtungen anzuführen, ohne eine Deutung zu versuchen und die verschiedenen Möglichkeiten, an die man bei Erklärungsversuchen wohl denken könnte, gegeneinander abzuwägen. Hier wie bei andern Punkten unserer Untersuchungen erscheinen die Verhältnisse zu kompliziert und zu dunkel, als daß auf Grund unserer Beobachtung eine befriedigende Erklärung versucht werden könnte.

28. *Aspergillus.*

9 Monate alte *Penicillium*-Lösung:

10 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % NH_4Cl.

Am 2. und 3. Tage in beiden Lösungen (roh und gekocht) kümmerliche Keimung im abnormen Habitus; Unterschiede zugunsten der gekochten Flüssigkeit werden am 3. Tage deutlich. Die rohe und gekochte Flüssigkeit, welche 3 Tage auf dem Arbeitstisch im Zimmerlicht stand, wurde derart verbessert, daß die Keimung der neu ausgesäten Sporen schon am 2. Tage energisch eingeleitet wurde unter Beibehaltung der oben angedeuteten Unterschiede.

29. *Aspergillus — Mucor — Rhizopus.*

2 Monate alte *Cladosporium*-Lösung auf:

10 % Rohrzucker,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % KNO_3 (Vergleichskultur zu 23).

Aspergillus und *Rhizopus* keimen wie in Lösung 23. Die *Mucor*-Sporen bleiben auf der rohen Flüssigkeit völlig unverändert; auf der gekochten am 1. Tage kräftige Keimung, am 3. Sporangienbildung.

Die gekochte Lösung stand 2 Tage auf dem Arbeitstisch; bei Neuaussaat beobachte ich, daß *Aspergillus* bereits am 1. Tage Myzel bildet; am 2. Fruchthyphen. *Mucor* zeigt am 1. Tage kräftige Ansätze zu Fruchthyphen, am 2. bereits Sporangien. *Rhizopus* beschleunigt in derselben Weise Myzelbildung und Fruktifikation.

X. Um den Grad, welchen die Verbesserung resp. Verschlechterung einer Nährlösung durch Kochen erreichen kann, einigermaßen abschätzen zu können, wurde untersucht, wie man eine gekochte gebrauchte, leistungsfähige Nährlösung mit destilliertem Wasser verdünnen muß, um nach Aussaat von Pilzen auf ihr eine ähnliche Wirkung zu erzielen, wie sie

sonst auf der entsprechenden rohen gebrauchten, wenig leistungsfähigen Nährlösung sich erzielen läßt bzw. umgekehrt. Zu diesem Zwecke verfuhr ich folgendermaßen:

Die Verdünnung wurde mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1 : 1, 1 : 2, 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20 vorgenommen, so daß auf 1 Teil gebrauchter Lösung je 1, 2 usw. bis 20 Teile destilliertes Wasser kamen. Ebenso verdünnte ich die rohe gebrauchte Flüssigkeit durch die gekochte im Verhältnis r : k, r : 2k, r : 5k, r : 10k, wobei auf 1 Teil roher Lösung je 1, 2, 5 und 10 Teile gekochter verdünnend wirkten. Es empfiehlt sich, in den mit destilliertem Wasser verdünnten Kulturen nur Pilzspezies zur Aussaat zu verwenden, welche auf destilliertem Wasser nicht keimen (eine Ausnahme macht *Botrytis*). Um Ungenauigkeiten zu vermeiden, nahm ich die Verdünnung der einzelnen Lösungsanteile in besonderen Reagensgläsern vor. Die Konzentrationsverhältnisse verschieben sich nicht unbeträchtlich, wenn man zur Herstellung der verdünnten Kulturlösungen nur ein einziges Reagierglas benützt und diesem jeweils die Flüssigkeit für die Objektträgerkulturen entnimmt.

30. *Mucor Mucedo* auf Lösung 10.

Die gebrauchte gekochte Flüssigkeit, welche durch Kochen brauchbarer geworden war, wurde im angegebenen Verhältnis verdünnt.

	1. Tag:	2. Tag:
1 : 1	Kräftige Keimung, dicke Keimschläuche	Myzel, Ansätze zu Fruchthyphen.
1 : 2	Im wesentlichen dasselbe	fortgeschrittenes Wachstum, beginnende Fruktifikation.
1 : 5	Nahezu dasselbe Bild, vielleicht fortgeschrittener	dasselbe.
1 : 10	Sporen gequollen, vereinzelt gekeimt und gewachsen	gewachsen, doch merklich geringer als 1 : 5.
1 : 20	Einzelne Sporen gekeimt	kaum merklich gewachsen, nahezu dasselbe Bild wie in der rohen Flüssigkeit.

Bei Verdünnung um das 10fache Volumen beginnt die Lösung merklich weniger brauchbar zu werden; bei 20facher Verdünnung geht die Keimung nahezu ebenso kümmerlich vor sich wie in der rohen unverdünnten Flüssigkeit.

Derselbe Effekt, nur im umgekehrten Sinne, muß sich erreichen lassen, wenn wir die rohe ungebrauchte, wenig leistungsfähige Nährlösung verdünnen und dadurch brauchbarer machen.

31. *Mucor* auf Lösung 31.

	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
1 : 1	Sehr vereinzelt gekeimt (1 %)	kümmerlich gewachsen	wenig fortgeschritten.
1 : 2	Merklich besser	Myzel	einzelne Sporangien.

	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
1 : 5	Sämtlich gekeimt und gewachsen	Myzel und Fruchthyphen	zahlreiche Sporangien.
1 : 10	Kräftig gewachsen, Myzelbildung beginnt	Myzel und Fruchthyphen	zahlreiche Sporangien, vielleicht geringere Fruktifikation.
1 : 20	Energisches Wachstum	anscheinend weniger fortgeschritten als 1 : 10	einzelne Sporangien.

Die wirksamste Verbesserung erfährt demnach die rohe Lösung durch Verdünnung mit dem 5- und 10fachen Volumen Wasser. Bei 20facher Verdünnung beginnt im Verlauf der Entwicklung bereits eine Hemmung des Wachstums einzutreten und bei fortschreitender Verdünnung (1 : 50) ist kaum noch Keimung der ausgesäten Sporen zu beobachten.

Die Verdünnung der rohen gebrauchten Kulturlösung wirkt in vielen Fällen energischer als Kochen.

32. *Aspergillus niger* — *Rhizopus* auf Lösung 23.

Aspergillus.

	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
1 : 1	Völlig unverändert	—	teils gequollen, teils gekeimt.
1 : 5	Völlig unverändert	die ersten kräftigen, dichotom gegabelten Hyphen	stark gewachsen.
1 : 10	Völlig unverändert	kräftig gewachsen, normale Hyphen	Fruchthyphen.
1 : 20	Völlig unverändert	stark gewachsen, normales Myzel, Fruchthyphen	Fruktifikationsorgane.

Durch Verdünnung der Lösung mit dem 10fachen Volumen destilliertem Wasser wird der Effekt des Kochens erreicht. Es prägt sich dies auch in dem Auftreten des normalen Wachstumshabitus aus.

In derselben Weise kann die rohe, wenig brauchbare Flüssigkeit durch Verdünnung um beliebige Volumina der gekochten verbessert werden.

	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
r : k	0	0	vereinzelt gequollen.
r : 2k	0	0	höherer Prozentsatz gequollen, vereinzelt gekeimt.
r : 5k	0	beginnt	Wachstum fortgeschritten.

	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
r : 10 k	0	fast sämtliche Sporen gekeimt	kräftig weitergewachsen, wie in der gekochten Flüssigkeit.

Rhizopus.

Messungen der Keimschläuche mit dem Mikrometer ergaben in den mit destilliertem Wasser verdünnten Kulturen (1 : 1, 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20) folgende Proportion:

Verdünnte Lösung: 1 : 5 : 10 : 20

Länge der Keimschläuche: 1 resp. 0 : 2,5 : 25 : 40 μ.

Im Verlauf der Weiterentwicklung bleiben diese Unterschiede am 2. und 3. Tage bestehen. In allen Fällen beobachte ich hier bei Verdünnung mit dem 10fachen Volumen die üppigste Entwicklung des Pilzes.

	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
r : k	Völlig unverändert	vereinzelt gequollen	vereinzelt gekeimt.
r : 2 k	Vereinzelt gequollen	teils im Begriff zu keimen, teils kräftig gewachsen	wenig fortgeschritten, abnormes Myzel.
r : 5 k	Sämtliche Sporen stark gequollen	größtenteils kräftig gekeimt	stark gewachsen, abnormer Habitus.
r : 10 k	Keimung eingeleitet, zahlreiche kurze Keimschläuche	kräftig gewachsen	stark fortgeschritten, dasselbe wie in gekochter Flüssigkeit.

Demnach kommt die Verdünnung der rohen Flüssigkeit mit dem 10fachen Volumen der gekochten der Wirkung der Siedehitze ungefähr gleich. Ebenso können wir die gekochte gebrauchte Flüssigkeit dadurch für die Keimung ungünstiger gestalten, daß wir ihr in analoger Weise Teile der rohen, wenig brauchbaren Flüssigkeit zusetzen. Nährlösungen, in welchen durch Kochen zerstörbare, wachstumsfördernde Stoffwechselprodukte auftreten, müssen bei Verdünnung der rohen oder gekochten Flüssigkeit „schlechter" oder „besser" werden. Mit den Lösungen 15—19 sind derartige Versuche mit demselben Erfolg wie in 31, 32 — im umgekehrten Sinne — angestellt worden.

Auch eine Verdünnung der gebrauchten Nährlösung mit ungebrauchter und eine Prüfung der Frage, wie hypothetische Stoffe der ersteren sich in dieser Mischung verhalten, wäre vielleicht nicht ohne Interesse gewesen. Versuche in dieser Richtung habe ich nicht angestellt.

In den oben mitgeteilten Ergebnissen liegt scheinbar ein Widerspruch zu den unter VIII ausgesprochenen Vermutungen. Fermente sind tatsächlich bei mehr als 200000facher Verdünnung noch wirksam. Es ist jedoch bei unsern Versuchen in Erwägung zu ziehen, daß starke Verdünnungen (1 : 40, 1 : 50) die gebrauchte Nährlösung an sich überhaupt unbrauchbar machen für jede Lebensäußerung der Organismen, demnach eine Einwirkung der

wachstumshemmenden resp. -fördernden Stoffe gar nicht mehr beachtet werden kann. Die Vergleiche mit fermentähnlich wirkenden Stoffen sind selbstverständlich nur im weitesten Sinne zu nehmen.

XI. Durch weitgehende Verdünnung mit destilliertem Wasser wurden Nährlösungen, welche wegen ihres reichlichen Gehalts an wachstumshemmenden Stoffen untauglich sind, für die Keimung brauchbar. Daraus geht schon hervor, daß der mehr oder minder reichliche Gehalt der verwendeten Nährlösung an Kohlehydraten usw. nur eine untergeordnete Rolle spielt und auch in Lösungen sehr geringer Mengen von Kohlehydraten usw. noch Keimung eintreten kann, solange nicht andere Umstände der Keimung entgegenwirken.

Hiernach war es von vornherein wahrscheinlich, daß es nicht gelingen würde, untaugliche gebrauchte Nährlösungen durch Zuckerzusatz tauglich zu machen.

33. *Aspergillus* — *Botrytis* — *Mucor* — *Penicillium* — *Rhizopus.*

5 Monate alte *Fusarium*-Lösung:

20 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % NH_4Cl.

Zimmertemperatur; Dunkelschrank.

Zusatz von Glukose (1 %) wirkt bei

Aspergillus in der rohen und gekochten Flüssigkeit beschleunigend auf Keimung und Myzelbildung. Die rohe Flüssigkeit wird verbessert, nicht aber die durch Kochen schon brauchbarer gewordene „ungezuckerte"; formative Effekte bleiben bestehen. Demnach

$$\text{gekocht} = \text{gek.} + \text{Z (Zucker)} = \text{roh} + \text{Z} > \text{roh}^1).$$

Botrytis. Keimung in der rohen Flüssigkeit ebenso wie in der gekochten, Zuckerzusatz ohne jeden Einfluß, daher

$$k = k + Z = r + Z = r.$$

Mucor. Keimung, Myzel- und Sporangienbildung in den Lösungen mit Zuckerzusatz energischer als in der unveränderten rohen und gekochten Flüssigkeit. Unterschiede zugunsten der gekochten deutlich ausgeprägt, im Verlauf der mehrtägigen Entwicklung beibehalten. Zuckerzusatz läßt die Unterschiede überhaupt erst in Erscheinung treten, demnach

$$k + Z > r + Z > \overbrace{k \geqq \text{roh.}}^{\text{(Sporen gequollen)}}$$

Penicillium — wie *Botrytis*

$$k = k + Z = r + Z = r.$$

---

1) k = gekochte Flüssigkeit.
k + Z = gekochte Flüssigkeit + 1 % Glukose.
r = rohe Flüssigkeit.
r + Z = rohe Flüssigkeit + 1 % Glukose.
> = besser als.

Rhizopus. In der rohen Nährlösung bleiben die Sporen völlig unverändert, in der gekochten quellen sie am 2. Tage. Durch Zuckerzusatz wird Keimung und Myzelbildung beschleunigt, die Unterschiede zugunsten der gekochten Flüssigkeit werden deutlicher. Demnach

$$k + Z > r + Z > k > r.$$

34. Dieselben Pilze wie in 31 auf 3 Monate alter *Cladosporium*-Lösung:
10 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % NH_4Cl.
Zimmertemperatur; Dunkelschrank.
Zusatz von 1 % Glukose wirkt folgendermaßen:

Aspergillus. Keimung in der rohen und gekochten Flüssigkeit gleich kräftig, durch Zuckerzusatz beschleunigt; in der gekochten Nährlösung, gleichgültig ob mit oder ohne Zuckerzusatz, am 2. Tage Übergang des Wachstums vom abnormen zum normalen Habitus. Demnach

$$k + Z = r + Z \geqq k = r.$$

Botrytis. Zuckerzusatz beschleunigt das Wachstum kaum merklich,

$$k + Z = r + Z = k = r.$$

Mucor. Zuckerzusatz ohne jeden Einfluß, weder Wachstumsbeschleunigung noch Beeinträchtigung der formativen Effekte. Demnach

$$k + Z = k = r + Z = r.$$

Penicillium. Nach Zuckerzusatz verschwinden die Unterschiede zugunsten der gekochten Flüssigkeit. Demnach

$$k + Z = r + Z \geqq k > r.$$

Rhizopus. Die Unterschiede zugunsten der gekochten Nährlösung bleiben bestehen; Zuckerzusatz bewirkt kaum merkliche Beschleunigung. Demnach

$$k + Z > k > r + Z > r.$$

35. Dieselben Pilze wie in 32 auf der Vergleichskultur zu 32; am Licht (zirka 8 Stunden täglich bestrahlt).

Aspergillus. In der rohen Nährlösung vielleicht stärkere Keimung als in der gekochten. Unterschiede gleichen sich rasch aus. Zuckerzusatz beseitigt die formativen Effekte, sonst ohne Einfluß. Demnach

$$k + Z = r + Z > r > k.$$

Botrytis. In der rohen Flüssigkeit merklich geringere Keimung als in der gekochten; Zuckerzusatz hierauf ohne jeden Einfluß. Demnach

$$k + Z > k > r + Z > r.$$

Penicillium. In der rohen und gekochten Flüssigkeit gleich kräftige Keimung; Zuckerzusatz ohne jeden Einfluß. Demnach

$$k + Z = r + Z \geqq k = r.$$

Mucor. Am 3. Tage in der rohen Flüssigkeit stärkere Quellung und Keimung. Zuckerzusatz beschleunigt das Wachstum und hebt die Unterschiede auf. Demnach

$$k + Z > k > r + Z > r$$
$$r + Z = k + Z > r > k \text{ (bei Wiederholung).}$$

Rhizopus. Die gekochte Flüssigkeit nahezu völlig ungeeignet zur Keimung, in der rohen starke Quellung sämtlicher Sporen. Durch Zuckerzusatz wird die gekochte Lösung kaum merklich verbessert. Demnach

$$r \geqq r + Z > k + Z = k.$$

Die Erfahrung, welche wir gewinnen wollen, wird aus einem sorgfältigen Vergleich dieser zum Teil widersprechenden Einzelergebnisse hervorgehen.

Zusammenstellung:

Laufende Nummer	Bezeichnung der Kultur	Pilz der II. Aussaat	Resümee
1	33	*Aspergillus*	$k = k + Z = r + Z > r$
2	34	—	$k = k + Z = r + Z = r$
3	35	—	$k + Z = r + Z > r > k$
4	33	*Botrytis*	$k = k + Z = r + Z = r$
5	34	—	$k = k + Z = r + Z = r$
6	35	—	$k + Z > k > r + Z > r$
7	33	*Mucor*	$k + Z > r + Z > k = r$
8	34	—	$k + Z = k = r + Z = r$
9	35	—	$r + Z = k + Z > r > k$
10	33	*Penicillium*	$k = r = k + Z = r + Z$
11	34	—	$k + Z = r + Z \geqq k > r$
12	35	—	$k + Z = r + Z \geqq k = r$
13	33	*Rhizopus*	$k + Z > r + Z > k > r$
14	34	—	$k + Z > k > r + Z > r$
15	35	—	$r \geqq r + Z > k + Z = k$

Wir beachten, daß es sich bei dem Einfluß der Siedehitze um qualitative Änderungen der Nährlösung handelt, daß also wachtumshemmende resp. fördernde Stoffe durch Kochen zerstört und die Lösung für die Keimung verbessert bzw. verschlechtert wird. Bei der Zugabe neuer Nährstoffe treten quantitative Änderungen ein, welche den qualitativen gegenüber entweder nicht in Betracht kommen, (6, 9, 14, 15) = 26 2/3 % aller Fälle — ihnen gleichzustellen sind (1, 7, 15) = 20 % — oder dieselben an Bedeutung überragen (12, 13) = 13 1/3 %. Weiterhin läßt sich beobachten, daß die Zufuhr von Kohlehydraten die Wirkung der hemmenden resp. fördernden Stoffe aufhebt (3, 11) = 13 1/3 % — und endlich erweisen sich beide Faktoren für gewisse Pilzspezies als vollständig unwirksam (2, 4, 5, 8, 10) = 33 1/3 %.

Die für unsere Erörterungen wertvollen Resümees bestätigen immerhin unsere obenerwähnte Vermutung, daß die Zufuhr neuer Nährstoffe die Wirkung hypothetischer Stoffwechselprodukte von hemmendem oder förderndem Einfluß weder abschwächt noch aufhebt. Eine Fortführung dieser Versuche auf breiterer Basis wäre auch schon deswegen erwünscht,

weil die Zuführung neuer Substanz, zumal wenn es sich um Lösungen handelt, welche roh bleiben sollen und nicht sterilisiert werden dürfen, vielleicht durch allerhand schwer kontrollierbare Nebenumstände die richtige Deutung der Ergebnisse erschwert oder diese sogar in ihrem Werte beeinträchtigt.

XII. Von Enzymlösungen ist bekannt, daß starke Belichtung sie zu zerstören pflegt[1]). Für Diastase hat Green[2]) die ultravioletten Strahlen am stärksten schädigend gefunden. Rahn[3]) beobachtet, daß das wachstumhemmende Produkt („Endoenzym"), welches er in einigen gebrauchten Bakteriennährlösungen feststellt, durch diffuses Licht zerstört wird.

Es existieren jedoch weder Angaben über den Einfluß des Lichtes überhaupt, noch über die Wirkung der verschieden „brechbaren" Teile des Spektrums auf wachstumshemmende resp. -fördernde Stoffe, wie sie in gebrauchten Pilznährlösungen auftreten. Aus diesem Grunde war es für mich von Interesse, etwas über den Einfluß dieses physikalischen Faktors auf unsere hypothetischen Stoffe zu erfahren.

Zunächst prüfte ich eine Reihe von Reinkulturen verschiedener Organismen, welche sich am Sonnenlicht (bei zirka 8stündiger, täglicher Bestrahlung) entwickelt hatten, auf das Vorhandensein wachstumshemmender oder -fördernder Stoffe. Die Vorgänge, welche sich unter diesen Bedingungen innerhalb der Kulturlösungen abspielen, werden wohl stark abweichen von dem Stoffumsatz in denjenigen Kulturen, welche bei Lichtentzug heranwuchsen. Derartige Unterschiede sind schon deswegen zu erwarten, weil Licht- und Dunkelkulturen auch bei Verwendung ein und derselben Nährlösung sich in den verschiedensten Beziehungen unterscheiden. So produziert z. B. *Fusarium* in Licht- und Dunkelkulturen ganz verschiedene Farbstoffe; die Lichtkulturen zeigen dabei durchweg eine höhere Azidität als die Dunkelkulturen; die Erntegewichte in beiden weichen stark voneinander ab. Zweifellos entwickeln sich die Organismen unserer Reinkulturen am Lichte weniger günstig. Ob bei diesen wachstumshemmenden Einflüssen des Lichtes auch eine Produktion hypothetischer Stoffwechselprodukte sich beobachten läßt, entzieht sich zunächst unsern Erwartungen. Es wird weiterhin festzustellen sein, ob in Kulturen, welche sich dauernd bei Entzug der chemisch wirksamen Strahlen (hinter Kaliumbichromat) entwickelten, hemmende oder fördernde Stoffe auftreten. Die direkte Einwirkung des vollen Sonnenlichtes oder der verschiedenfarbigen Strahlen des Spektrums prüfen wir endlich am besten dadurch, daß wir Teile des Filtrats der rohen oder gekochten, gebrauchten Flüssigkeit, in welcher wir Stoffe von hemmendem oder förderndem Einfluß beobachten

[1]) Czapek, Biochemie der Pflanzen; I p. 71.
[2]) Green, Die Enzyme.
[3]) Rahn, Centralbl. f. Bakt., Bd. XVI p. 416.

konnten, einige Zeit dem vollen Sonnenlicht oder den chemisch wirksamen oder Wärmestrahlen aussetzen. Es wird uns auf diese Weise möglich sein, die Intensität der Einwirkung von verschiedenen Temperaturgraden wie in VIII zu vergleichen mit dem Einfluß dieses Faktors.

a) Kulturen, welche im Verlauf ihrer Entwicklung dauernd der Einwirkung des Sonnenlichtes ausgesetzt waren.

Zunächst verhalten sich die Lösungen der dem Lichte ausgesetzten Kulturen ebenso wie die Lösungen der Vergleichskulturen, welche sich im Dunkelschrank entwickelten. Wir beobachten in einer Anzahl der Lichtlösungen das Auftreten von wachstumshemmenden Stoffen, welche durch Kochen zerstört werden.

Es ist aber auffallend, daß in einigen dieser Kulturen, besonders bei Verwendung von Pepton als N-Quelle (resp. C- + N-Quelle) die gebrauchte Nährlösung durch Kochen regelmäßig verschlechtert wird, während in den Lösungen der Vergleichskulturen des Dunkelschranks ebenso regelmäßig eine verbessernde Wirkung des Kochens sich beobachten läßt; in 35 liegen ähnliche Fälle vor. Die Intensität der Hitzeeinwirkung ist nur erheblich geringer. Es ist weiterhin beachtenswert, daß diese Unterschiede sich zugunsten der rohen gebrauchten Flüssigkeit fast ausschließlich nur bei Aussaat von *Rhizopus*-Sporen äußern. Nach 33 *(Aspergillus, Mucor, Rhizopus)* scheint jedoch eine spezifische Wirkung hier nicht vorzuliegen.

Wir können mit Sicherheit annehmen, daß unter dem Einfluß des Lichtes während der ganzen Kulturperiode in Kulturen, welchen Pepton als N-(resp. C- + N-)Quelle zur Verfügung stand, hypothetische Stoffe von wachstumsförderndem Einfluß produziert werden. Für andere N-Quellen macht sich das nur andeutungsweise bemerkbar; sie erweisen sich jedoch im allgemeinen für die Bildung dieser Stoffe weniger geeignet als Pepton.

b) Kulturen, welche in rotem Licht kultiviert wurden.

Aus Vergleichen mit den entsprechenden Licht- und Dunkelkulturen ersehen wir, daß in diesen Lösungen wachstumshemmende, durch Kochen zerstörbare Stoffe in demselben Maße auftreten.

c) Die letzte Gruppe der Versuche sollte ermitteln, welche Wirkung das Licht auf die Lösung der Kulturen dann hat, wenn die Pilzdecke von den Nährlösungen genommen und diese aus dem Dunkelschrank ans Licht gebracht wird.

In der Tat läßt sich nachweisen, daß wachstumshemmende, durch Kochen zerstörbare Stoffe in den rohen Nährlösungen der alten Kulturen unter Einwirkung des vollen Sonnenlichtes mindestens ebenso energisch geschädigt werden wie durch höhere Temperaturen; ferner, daß unbrauchbare, alte Lösungen unter dem Einfluß der violetten (chemisch wirksamen) Strahlen des Sonnenspektrums in derselben Weise verbessert werden wie durch Behandlung im Wasserbad.

Demnach wirken im Sonnenlicht nur oder vorherrschend die chemisch wirksamen Strahlen auf unsere hypothetischen Stoffe ein, während die roten oder gelben Strahlen (Wärmestrahlen) keinen Einfluß geltend machen.

Die Lösungen wurden zirka 20 Stunden der Einwirkung verschiedener Strahlen ausgesetzt.

36. *Botrytis — Mucor — Rhizopus* auf 3 Monate alter *Saprolegnia*-Lösung (vgl. 24), 1 % Pepton; Zimmertemperatur; Dunkelschrank.

Botrytis cinerea.

	1. Tag:	2. Tag:
Rohe Fl.	Sporen gekeimt, beginnende Myzelbildung	Myzel im Wachstum fortgeschritten.
Gek. Fl.	Myzel, Fruchthyphen, vereinzelt Konidien	Konidienbildung allgemein.
S[1]	Myzel, Fruchthyphen, vereinzelt Konidien	Konidienbildung allgemein.
Cu[2]	Myzel, Fruchthyphen, vereinzelt Konidien	Konidienbildung allgemein.
K[3]	Kümmerlich gekeimt, teilweise unverändert, teilweise kurze Keimschläuche	Wachstum scheint sistiert, Fortschritte kaum merklich.

Mucor Mucedo.

Rohe Fl.	Einzelne Sporen gekeimt	sämtlich gekeimt u. gewachsen.
Gek. Fl.	Myzel, Fruchthyphen	Sporangien.
S	Myzel, Fruchthyphen	Sporangien.
Cu	Nahezu ebenso wie gekocht, vielleicht geringer	Myzel und Sporangien, nicht so üppig als gekocht.
K	Zirka 1 % gekeimt, sonst völlig unverändert	die gekeimten Sporen weitergewachsen. merklich geringer als roh.

Rhizopus.

Rohe Fl.	Fast sämtlich gekeimt, kurze Keimschläuche	Myzel, fortgeschrittenes Wachstum
Gek. Fl.	Myzel, vereinzelt Sporangien	kräftige Fruktifikation.
S	Myzel, vereinzelt Sporangien	vielleicht weniger üppige Sporangienbildung.
Cu	Nahezu ebenso	vielleicht weniger üppige Sporangienbildung.
K	Sporen gekeimt, wie in roher Flüssigkeit	Wachstum scheint sistiert, merklich geringer als roh.

[1]) S = Lösung (rohe gebrauchte) am Sonnenlicht.
[2]) Cu = Lösung (rohe gebrauchte) hinter Kupferoxydammoniak.
[3]) K = Lösung (rohe gebrauchte) hinter Kaliumbichromat.

37. *Mucor* — *Rhizopus* auf Lösung 10.

Mucor.

	1. Tag:
Rohe Fl. (wiederholt)	Zirka 1 % beginnt zu keimen.
Gek. Fl. (wiederholt)	50 % gequollen, 50 % gekeimt und gewachsen.
S	Wie in gekochter Flüssigkeit, eher besser.
Cu	Wie in gekochter Flüssigkeit, eher besser.
K	Merklich geringer als S und Cu, jedoch zirka 50 % gekeimt; am 2. Tage Wachstum zurückgeblieben.

Rhizopus.

Rohe Fl.	Zirka 1 % beginnt zu keimen.
Gek. Fl.	Kräftig gewachsen, Myzel.
S	Myzel.
Cu	Myzel.
K	Beginnt, höherer Prozentsatz als in roher Flüssigkeit.

In einzelnen Fällen sind die Ergebnisse weniger deutlich, etwa von folgender Form.

38. *Mucor* auf Lösung 8.

Rohe Fl. (wiederholt)	Unverändert, zirka 1 % beginnt.
Gek. Fl. (wiederholt)	Myzelbildung.
S	Myzelbildung.
Cu	Myzelbildung; Fruchthyphen.
K	Gekeimt und teilweise kräftig gewachsen, wenig verzweigte Hyphen, Myzelbildung in den ersten Anfängen.

An den folgenden Tagen gleichen sich die Unterschiede in den dem Licht ausgesetzten Anteilen der rohen Flüssigkeit aus.

Es müssen nun auch Kulturlösungen, welche nach Kochen ungünstiger auf die Neuaussaat wirken (z. B. 15—19) in analoger Weise im Sonnenlicht und in blauem Licht unbrauchbar werden. Bei einigen Versuchen hat sich das auch mehr oder weniger deutlich bestätigt.

39. *Mucor* — *Rhizopus* auf $5^1/_2$ Monate alter *Saprolegnia*-Lösung (vgl. 15); alkalische Reaktion; Zimmertemperatur; Dunkelschrank.

Bei *Mucor* und *Rhizopus* ungefähr dieselben Beobachtungen.

	1. Tag:	2. Tag.
Rohe Fl.	Kräftige Myzelbildung, Sporangien noch nicht zahlreich	üppige Fruktifikation.
Gek. Fl.	Gekeimt und gewachsen, Myzelbildung beginnt	Wachstum fortgeschritten, Fruchthyphen, einzelne Sporangien.
S	Wenig besser als in gekochter Flüssigkeit, kümmerliche Myzelbildungen	fortgeschrittenes Wachstum.
Cu	Im wesentlichen dasselbe Bild	fortgeschrittenes Wachstum.
K	Enorm kräftiges Wachstum, Fruchthyphen, Sporangien sehr vereinzelt	zahlreiche Sporangien.

Von untergeordneter Bedeutung sind alle Ergebnisse, welche eine minimale Verbesserung der schon durch Kochen tauglicher gewordenen leistungsfähigen Flüssigkeit durch nachfolgende Bestrahlung erkennen lassen. Ebenso beobachtete ich bisweilen beim Kochen der Lichtlösungen eine abermalige Verbesserung bzw. Verschlechterung der durch Kochen bereits in irgendeinem Sinne veränderten, gebrauchten Nährlösung.

XIII. Rahn[1]) berichtet über ein wachstumshemmendes Stoffwechselprodukt in Nährlösungen von Bakterien, das nicht, wie die wachstumsfördernden Stoffe anderer Bakterienkulturen, thermolabil ist und das Tonfilter nicht passiert. Die wachstumshemmenden Stoffe, welche Schneider und Howard[2]) in den Extrakten einiger Kulturböden von höheren Pflanzen feststellten, gehen durch das Filtermaterial der Tonkerze.

Gewöhnlich werden Moleküle von großem Umfang durch das Filtermaterial adsorbiert. Es lag nahe, durch Filtration der gebrauchten, durch Kochen beeinflußbaren Nährlösungen etwas über die Größe der Moleküle jener uns interessierenden Stoffe zu erfahren.

Wenn wir beobachten, daß eine gebrauchte Pilzlösung, welche in rohem Zustande für die Keimung neuausgesäter Pilzsporen wenig günstig ist, durch Tonfilterbehandlung in ähnlichem Sinne sich verändert, d. h. bessern läßt, wie durch Kochen, so dürfen wir schließen, daß die wirksamen Stoffe vom Filter nicht durchgelassen, also in den Kapillarräumen der Kerze adsorbiert worden sind. Wenn aber die filtrierte, rohe Nährlösung sich ebenso verhält wie die unfiltrierte, rohe, so müssen jene Stoffe das Filter passiert haben. Wir weisen ihr Vorhandensein im Filtrat in derselben Weise wie bisher nach, indem wir höhere Temperaturen oder Licht darauf einwirken lassen.

Ich verfuhr in den folgenden Versuchen so, daß die Tonkerze vor Gebrauch in destilliertem Wasser ausgekocht und mit mindestens 1 l destilliertem Wasser unter Zuhilfenahme der Saugvorrichtung ausgespült wurde. Das Trocknen geschieht bei 100° C im Trockenschrank (10 Stunden). Bei Gebrauch läßt man eine Portion der zu untersuchenden Nährlösung in ein sterilisiertes Gefäß absaugen. Die ersten Teile des Filtrats benutzt man vorsichtshalber nicht.

40. *Aspergillus* — *Mucor* — *Rhizopus* auf Lösung 23 (vgl. 30).

Aspergillus.	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
Roh unfiltr.	0	0	gequollen.
Gek. unfiltr.	0	Einzelne gequollen, einzelne kräftig gekeimt, abnorm verzweigt	stark gewachsen.

[1]) Centralbl. f. Bakt., Bd. XVI p. 416.

[2]) Some Factors influencing soil fertility (U. S. Depart. of Agric. Washington 1907, p. 1).

	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
Filtr. roh	Sämtliche Sporen beginnen zu keimen	stark gewachsen, durchweg normaler Habitus	makroskop. sichtbare Myzelinseln.

Demnach: Filtriert roh > unfiltriert gekocht > unfiltriert roh.

Mucor.

	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
Roh unfiltr.	0	0	0
Gek. unfiltr.	0	0	beginnt.
Filtr. roh	Zirka 10 % kräftig gekeimt	Myzel	fortgeschrittenes Wachstum, Fruchthyphen.

Demnach: Filtriert roh > unfiltriert gekocht > unfiltriert roh.

Rhizopus.

	1. Tag:	2. Tag:	3. Tag:
Roh unfiltr.	0	Keimung beginnt	sämtlich gekeimt.
Gek. unfiltr.	Sämtlich stark gequollen, zahlreiche Sporen gekeimt	stark gewachsen	fortgeschritten, Myzel
Filtr. roh	Kräftig gekeimt, lange Keimschläuche	Fortschritt gering, gegenüber gekocht zurückgeblieben	Wachstum verzögert.

Demnach: Filtriert roh = unfiltriert gekocht > unfiltriert roh.

Für alle verwendeten Pilzspezies ist die filtrierte rohe Flüssigkeit merklich brauchbarer geworden oder ist ebenso geeignet für die Keimung neuausgesäter Sporen wie die gekochte unfiltrierte.

Einige Lösungen, z. B. 40, 41, wurden auch in der Weise behandelt, daß in sie sterilisierte Tierkohle geschüttet wurde. Bei manchen der Versuche ließ sich ebenfalls eine Verbesserung der Nährlösung nachweisen, wahrscheinlich infolge der Adsorption der wachstumshemmenden Stoffe. Doch sind meine Versuche weder zahlreich genug, noch die Ergebnisse hinreichend übereinstimmend, als daß ich über den Einfluß der Tierkohle auf die Qualität gebrauchter Nährlösungen ein Urteil abgeben möchte.

In einigen erschöpften Pilzlösungen wurde infolge der Filtration durch die Tonkerze die Verbesserung so deutlich, daß sie nach Messungen der Keimschläuche auch in den unfiltrierten Lösungen in einer Proportion ausgedrückt werden konnte.

41. *Mucor* — *Rhizopus* auf 12 Tage alter *Aspergillus*-Nährlösung (30° C):
10 % Rohrzucker,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % KNO_3; saure Reaktion.

Mucor.	1. Tag:	2. Tag:
Roh unfiltr.	0	gekeimt.
Gek. unfiltr.	Sämtlich gekeimt	stark gewachsen, Myzel.
Filtr. roh	Myzel, Fruchthyphen	Sporangien.

Rhizopus.	1. Tag:	2. Tag:
Roh unfiltr.	Sämtlich gekeimt, die ersten Keimschläuche	wenig fortgeschritten (2 μ).
Gek. unfiltr.	Merklich besser gekeimt, teilweise gewachsen	erheblich längere Keimschläuche als in roher Flüssigkeit (6—8 μ).
Filtr. roh	wie gekocht	enorm gewachsen (30—40 μ).

Demnach für *Mucor:* filtriert roh > unfiltriert gekocht > unfiltriert roh,
Rhizopus: filtriert roh ≧ unfiltriert gekocht > unfiltriert roh.

Verhältnis der Länge der Keimschläuche 1 : 4 : 20.

Wie verhält sich nun die filtrierte rohe Flüssigkeit nach Kochen gegenüber neuausgesäten Pilzsporen?

42. *Mucor* — *Rhizopus* auf Lösung 10.

Mucor.	1. Tag:	2. Tag:
Roh unfiltr.	0	beginnt
Gek. unfiltr.	Teils gequollen, teils gekeimt	kräftig fortgeschritten, Myzelbildung eingeleitet.
Filtr. roh	Stärker gekeimt als unfiltriert gekocht	Myzel, Fruchthyphen.
Filtr. gek.	Merklich besser als filtriert roh	starke Sporangienbildung.

Demnach:
Gekocht filtriert > roh filtriert > gekocht unfiltriert > roh unfiltriert.

Rhizopus.	1. Tag:	2. Tag:
Unfiltr. roh	Erste Anfänge der Keimung	erstes Wachstum.
Unfiltr. gek.	Gekeimt u. kräftig gewachsen	Myzelbildung beginnt.
Filtr. roh	Etwas besser als unfiltriert gekocht	starkes, weit verzweigtes Myzel.
Filtr. gek.	Kräftig gewachsen	Myzel, einzelne Lufthyphen.

Demnach: Filtriert gekocht > filtriert roh > unfiltriert gekocht > unfiltriert roh.

In einer Reihe anderer Versuche wurden die filtrierten rohen Lösungen durch Kochen nicht verändert; durch Filtrieren waren sie jedoch merklich brauchbarer geworden als die unfiltrierte rohe und gekochte Flüssigkeit.

Wie auf die Moleküle der uns interessierenden wachstumshemmenden Stoffwechselprodukte kann das Filter natürlich auch auf andere hochmolekulare Verbindungen der Nährlösung einwirken und diese zurückhalten, so daß unter Umständen durch Filterbehandlung die Lösung für die Keimung der Sporen verschlechtert werden kann, wenn die von der Tonkerze zurückgehaltenen Verbindungen für den Pilz als Nährstoffe oder fördernd in anderem Sinne eingewirkt hätten. Zu der Erwägung dieser Möglichkeit führt mich eine Reihe von Beobachtungen, welche bei Verwendung einer Anzahl gebrauchter und filtrierter Peptonnährlösungen angestellt wurden (vgl. 43). Die chemische Natur einer gebrauchten Pepton-

nährlösung dürfte freilich viel zu kompliziert sein, als daß man sich hier nicht den Gedanken an manche andere Erklärungsmöglichkeit nahe halten müßte.

43. *Mucor* — *Rhizopus* auf Lösung 8.

Mucor.

	1. Tag:	2. Tag:
Unfiltr. roh	Vereinzelt Keimung	kümmerliche Myzelbildung.
Unfiltr. gek.	fast sämtlich gekeimt, Myzel	starke Myzelbildung, Fruchthyphen.
Filtr. roh	Vereinzelt gekeimt .	wie unfiltriert roh.
Filtr. gek.	Ebenso	ebenso.

Demnach:
Unfiltriert gekocht > unfiltriert roh = filtriert roh = filtriert gekocht.

Rhizopus.

	1. Tag:	2. Tag:
Unfiltr. roh	Sämtlich gekeimt	kräftig weitergewachsen.
Unfiltr. gek.	Merklich besser als unfiltriert roh	Unterschiede nahezu ausgeglichen.
Filtr. roh	Sämtlich gekeimt, vielleicht etwas besser als unfiltriert roh	dasselbe.
Filtr. gek.	Ebenso, eher wie unfiltriert gekocht	dasselbe.

44. *Mucor* auf 2 Monate alter *Mucor*-Nährlösung:
10 % Glukose,
0,2 % Nährsalze,
0,5 % Pepton.

	1. Tag:	2. Tag:
Unfiltr. roh	Nur sehr vereinzelt gekeimt	stark gewachsen, Myzel.
Unfiltr. gek.	50 % gequollen, 50 % stark gewachsen	Fruchthyphen und Sporangien.
Filtr. roh	0 oder nur sehr vereinzelt	wie in der rohen unfiltrierten Flüssigkeit.
Filtr. gek.	Nahezu dasselbe Bild wie gekocht (unfiltriert)	Myzel, Fruchthyphen.

Demnach:
Unfiltriert gekocht ≥ filtriert gekocht > filtriert roh = unfiltriert roh.

2. Kapitel.

Myzelproduktion der Schimmelpilze auf gebrauchten Nährlösungen.

Wie bereits früher bemerkt wurde, läßt sich aus den Ergebnissen, nach welchen gebrauchte Nährlösungen in rohem bzw. gekochtem Zustande auf die Keimung bestimmter Pilzspezies ungleich einwirken, noch kein Schluß über die Wirkung eben derselben Lösung (roh bzw. gekocht) auf

die spätern Entwicklungsstadien der nämlichen Pilze ableiten. Es wäre vorstellbar, daß eine gebrauchte Nährlösung, welche infolge ihres Gehaltes an irgend welchen keimungshemmenden Stoffen die Keimung bestimmter Pilzsporen aufhält, auf die spätern Entwicklungsstadien derselben Pilzspezies fördernd einwirkt.

Nikitinsky's Untersuchungen lehren, daß unter dem Einfluß wachsender Schimmelpilze in den Nährlösungen Stoffe entstehen, welche bei Neuaussaat desselben Pilzes *(Aspergillus niger)* sein Wachstum in dem Sinne fördern, daß das Gewicht der Ernte steigt, wenn man hinreichend neue Nährsubstanz zufügt. Es war daher notwendig, meine in Kapitel I geschilderten Versuche noch dahin zu ergänzen, daß der Einfluß gebrauchter Nährlösungen auf spätere Entwicklungsstadien des Pilzmycels und insbesondere auf das Gewicht der Pilzernte geprüft wurde.

Methodisches.

Von den Lösungen der Kulturen wurden nach der ersten Ernte gleiche Anteile in gekochtem oder rohem Zustande weiter verwandt oder das ganze aus einer Kultur stammende Lösungsmaterial roh oder gekocht verarbeitet. Das Gefäß zur Aufnahme des Filtrats, Trichter und Papierfilter, dessen Gewicht vor Verwendung festgestellt wird, sterilisierte ich im Autoklaven bei 3 Atm. Die Ernte wird am besten im Impfkasten[1]) vorgenommen. Soll die ganze Flüssigkeitsmenge der alten Pilzlösung unverändert bleiben, so bestimmt man nach der Ernte deren Volumen entweder in einem sterilisierten Maßzylinder oder in ähnlicher Weise. Das Mycel der entsprechenden Kultur, deren Lösung gekocht wird, kann außerhalb des sterilen Raumes abgeerntet werden. Etwaige Infektionskeime gehen in der Siedehitze zugrunde. Um bei der Filtration Verluste an gebrauchter Nährlösung zu vermeiden, verfährt man am besten wie Nikitinsky[2]). Die geerntete Myceldecke wird auf dem Filter im Trockenschrank Temperaturen von 100—120° C., etwa 10 Std. lang, ausgesetzt, im Exikator abgekühlt und gewogen.

Nach einzelnen Ernten wurde den *Aspergillus*-Nährlösungen die C-Quelle in gelöster Form zugeführt. Nikitinsky berechnet in analogen Nährlösungen bei ähnlichen Bedingungen und derselben Kulturdauer den Verlust an Zucker auf 2%. Die Zuckerlösung wird durch Kochen im Wasserbad genügend sterilisiert und im Impfkasten der gebrauchten Flüssigkeit zugesetzt. Wir umgehen beträchtliche Volumschwankungen in der alten Nährlösung durch Zugabe einer hochprozentigen Zuckerlösung, so, daß wir z. B. bei einem Volumen von 250 ccm 1 ccm einer 10% oder $^1/_2$ ccm einer 20% Zuckerlösung anwenden. Über Konzentrationsschwankungen infolge Zufuhr neuer Nährstoffe siehe Nikitinsky[3]).

---

[1]) Küster, Kultur der Mikroorganismen, p. 63.

[2, 3]) Pringsheims Jahrbücher, Bd. 40; unter Methodisches p. 3ff.

Durch Titration mit $^1/_{10}$ normal oder normal KOH bestimmte ich vor Neuaussaat den Säuregehalt der Kulturlösungen.

Die *Aspergillus*-Kulturen wurden weiterhin, meist nach 2 Ernten, mit normal KOH neutralisiert. Aus den Ergebnissen der Aziditätsbestimmungen läßt sich leicht das Volumen der zur Neutralisierung nötigen Lauge ungefähr berechnen. Die Lauge wird der Lösung nach Sterilisation im Impfkasten zugegeben. Die Neutralität der Lösung prüfte ich durch neutrales Lackmuspapier. Bei allen diesen Prozeduren ist die Gefahr der Infektion durch fremde Keime, besonders für die rohe Flüssigkeit, außerordentlich groß.

Die Aussaat der *Aspergillus*-Sporen wird so ausgeführt, daß annähernd gleich viel Sporen in die neue Lösung kommen. Die Sporen von *Aspergillus* bilden in Berührung mit Flüssigkeiten einen membranartigen Überzug auf deren Oberfläche. Aus einem solchen „Häutchen" auf dest. Wasser entnimmt man, immer mit derselben Ösenöffnung der Platinnadel, die Aussaat. Impft man in der geschilderten Weise, so erhält man ceteris paribus Ernten von annähernd gleichen Gewichtsmengen. Die *Aspergillus*-Kulturen entwickelten sich bei einer Temperatur von 30° C im Thermostaten.

I. Wachstum verschiedener Schimmelpilze auf erschöpfter Saprolegnialösung.

1%ige Peptonlösung, auf welcher *Saprolegnia* 3 Monate und länger in Reinkultur gewachsen war, verwandte ich in der Weise, daß auf ihnen d. h. auf rohen und gekochten Anteilen verschiedene Pilze zur Aussaat kamen. Die Nährlösungen waren bereits vorher in rohem und gekochtem Zustande auf den Einfluß geprüft worden, den sie auf die Keimung verschiedener Pilzsporen ausübten, und es war dabei festgestellt worden (s. o.), daß die Lösungen sich verschieden verhielten, in den Nährlösungen von besonderem Alter (5—6 Monate) in rohem Zustande die Keimung meist besser förderten als in gekochtem, während jüngere Kulturen (2—4 Monate) durch Kochen besser werden; auch davon, daß schwache Ansäuerung *Saprolegnia*-Lösung in dem Sinne verändert, daß sie in rohem Zustande für die Keimung der Pilzsporen günstiger ist als die gekochte, war oben schon die Rede.

Die weitere Entwicklung verschiedener Schimmelpilze *(Aspergillus niger, Botrytis, Penicillium)* auf denselben *Saprolegnia*-Lösungen zeigte, daß im allgemeinen eine größere Ernte bei den Vergleichsserien von rohen und gekochten Flüssigkeiten gerade auf denjenigen Medien erzielt wurde, welche für die Keimung sich minder günstig erwiesen hatten, so z. B. lieferte *Aspergillus* auf roher Lösung (geringe Keimung) 0,135 g Trockensubstanz, während auf derselben Lösung nach Kochen (geförderte Keimung) nach 4 Monaten überhaupt keine Ernte erzielt wurde.

Vergleichskulturen mit ungebrauchter Nährlösung lieferten Erntegewichte, welche im allgemeinen den auf gekochten resp. rohen gebrauchten erzielten entsprachen.

Auch bei angesäuerten Nährlösungen, von deren Wirkung auf keimende Pilzsporen ich soeben sprach, läßt sich beobachten, daß die Lösungen, welche für die Keimung minder günstig waren, gewöhnlich mehr Myzel produzierten, so z. B. erzeugte *Aspergillus* auf der gekochten Flüssigkeit (geringe Keimung) eine Ernte von 0,15 g, auf der rohen (geförderte Keimung) 0,02 g.

Mit dem Ableiten allgemeiner Schlüsse aus diesen Befunden werden wir aber vorsichtig sein, da hie und da bei manchen Kulturen Resultate sich ergaben, die dem bisher Mitgeteilten widersprachen. Die Fehlerquellen, welche dabei offenbar im Spiele sind, konnten nicht aufgedeckt werden.

II. Wachstum von Fusarium Solani auf gebrauchter Fusarnährlösung.

Gebrauchte *Fusarium*-Nährlösungen verhalten sich gegenüber neuausgesäten Sporen verschiedener Pilzspezies im wesentlichen ebenso wie erschöpfte *Saprolegnia*-Lösungen (s. Kap. I, 10). Neben Stoffen von hemmendem Einfluß treten, besonders unter der Einwirkung des Lichtes, auch solche von förderndem auf, welche durch Kochen zerstört werden.

Es bleibt das Verhalten von Fusarnährlösungen eben demselben Pilze gegenüber und insbesondere ihre Wirkung auf die bei einer zweiten Aussaat erzielbaren Erntemengen zu untersuchen.

Aus der Tabelle (S. 44 u. 45) geht hervor, daß im allgemeinen in alten Kulturen und in den meisten der jüngeren die Lösungen nach einmaligem Kochen unbrauchbar oder doch minder brauchbar werden. Die in gleichen Zeiträumen erzeugten Ernten sind in der rohen Flüssigkeit durchweg höher als in der gekochten.

Es treten demnach im Verlaufe der Entwicklung Stoffe auf, welche die Produktion an Trockensubstanz durch denselben Pilz, der die Lösung erschöpfte, beschleunigte. Auch Nikitinsky nimmt für *Aspergillus*-Nährlösungen wachstumsfördernde Stoffe an, welche es mit sich bringen, daß bei Weiterverwendung gebrauchter Kulturlösungen immer höhere Ernten erzielbar werden. Da aber Nikitinsky seine Nährlösungen vor Neuaussaat des Pilzes stets kochte, kann es sich bei seinen Versuchen nicht um Stoffe handeln, welche den wachstumsfördernden, von uns (in *Fusarium*-Nährlösungen) beobachteten vergleichbar sind; denn die von Nikitinsky für *Aspergillus*-Lösungen angenommenen widerstehen der Siedetemperatur, während die von uns für *Fusarium*-Nährlösungen erschlossenen, wie gesagt, durch Kochen zugrunde gehen oder deren Wirkung zum mindesten durch höhere Temperaturen abgeschwächt wird.

Die *Fusarium*-Nährlösungen, von denen oben die Rede war, standen während der Entwicklung des Pilzes im Dunkeln. Die Lösungen entsprechender Lichtkulturen verhielten sich entgegengesetzt: Gekochte Nährlösung lieferte regelmäßig eine erheblich höhere Ernte als die rohe.

Einige Zahlenbeispiele mögen das Gesagte belegen: Lösung 22 der Tabelle (roh) erzeugte in der II. Kulturperiode 0,17 g, Lösung 23 (gekocht) 1,09 g; Lösung 24 lieferte in dem unveränderten Teil der ganzen Lösung 0,33 g, in dem gekochten 0,65 g Trockensubstanz.

Ob die Azidität der Lichtlösung die unmittelbare Veranlassung für deren entgegengesetzte Wirkung auf Pilzwachstum und Pilzernte ist, oder die saure Reaktion der Nährflüssigkeit den Pilz zur Produktion wachstumshemmender, durch Kochen zerstörbarer Stoffe anregt, muß dahingestellt bleiben.

III. Wachstum von Aspergillus niger auf gebrauchter Aspergillus-Nährlösung.

Nachdem Nikitinsky gezeigt hatte, daß in Nährlösungen aufeinander folgender *Aspergillus*-Kulturen die Erntegewichte steigen, demnach wachstumsfördernde Stoffe angehäuft werden, lag es nahe, wie in II für *Fusarium* den Einfluß dieser Stoffe auf die Myzelproduktion in der rohen und gekochten Flüssigkeit zu prüfen. Wie schon erwähnt wurde, hat Nikitinsky den Einfluß der Siedehitze auf diese Stoffe nicht berücksichtigt. Es ist weiterhin wohl denkbar, daß die Änderung der Reaktion durch Neutralisierung der stark sauren, gebrauchten Flüssigkeiten, wie er sie sehr häufig vornahm, eine Rolle spielt, welche nicht unbeachtet bleiben darf.

Trotz der großen Zahl von Untersuchungen, welche mit *Aspergillus niger* angestellt wurden, konnte ich fast für alle Fragen keine eindeutigen Ergebnisse gewinnen.

Nikitinsky's Angaben, daß gebrauchte *Aspergillus*-Nährlösungen bei hinreichendem Gehalt an Nährsubstanzen besonders günstig auf das Weiterwachstum des Pilzes einwirken, konnte ich nur teilweise bestätigen. Ich verfuhr bei meinen Aussaaten auf gebrauchter Nährlösung in der Weise, daß immer am 3. oder 4. oder 5. oder 8. Tage oder immer nach 2 resp. 3 Wochen die Ernte gewogen und eine neue Aussaat vorgenommen wurde. Weder durch das Wachstum in kurzen Perioden noch nach Verstreichen langer Perioden ließ sich die Nährlösung regelmäßig als besser erkennen. Während Nikitinsky nach jeder Kultur, die er vielfach erst nach längeren Perioden abnahm als ich bei meinen Versuchen, nach jeder Ernte neue Zuckermengen zuführte, wurden bei meinen Versuchen immer nur nach der zweiten Ernte neue Zuckermengen zugesetzt. Die dadurch bedingte Steigerung der Erntemengen entsprach nicht immer den von Nikitinsky angegebenen Resultaten, was seinen Grund darin haben wird, daß ich den Verlust an Nährsubstanz nicht, wie Nikitinsky auf chemisch analytischem Wege feststellte, sondern regelmäßig 2% Rohrzuckerlösung den gebrauchten Flüssigkeiten zufügte. Als Nährlösungen benutzte ich verschiedene Mischungen, darunter auch die von Nikitinsky angewandten.

Von diesen Befunden unberührt bleibt zunächst die Frage, ob das Kochen die Wirkung gebrauchter Nährlösung auf Myzelbildung und Ernte-

Laufende No.	Nährquellen C %	Nährquellen N %	Vol. I ccm	Azid. I %	Behandlung der Kultur	Dauer I	I. Ernte g	Dauer II	Azid. II %	Volumen II roh ccm	Volumen II gekocht ccm	II. Ernte roh g	II. Ernte gekocht g	
1	20 Glukose	0,5 NH_4Cl	200	0,65	dunkel	15 Tg.	0,538	3 Mon.	0,80	60	60	0,146	0,078	roh > gek.
2	„	„	„	„	„	45 Tg.	1,740	2 Mon.	0,90	60	60	0,465	0,186	
3	„	„	„	„	„	150 Tg.	0,501	45 Tg.	0,75	75	75	0,120	0,000	roh > gek.[1]
4	„	0,5 Asparagin	150	0,25	„	„	2,550	„	0,30	65	65	0,370	0,20	roh > gek.[2]
5	„	0,5 KNO_3	„	0,20	„	21 Tg.	1,343	14 Tg.	0,45	140	—	1,132	—	gek. > roh
6	„	„	„	„	„	„	0,448	„	0,40	—	142	—	2,862	
7	„	„	80	„	„	10 Tg.	0,76	16 Tg.	—	70	—	0,86	—	roh > gek.
8	„	„	„	„	„	„	0,65	„	—	—	70	—	0,22	
9	„	„	„	„	„	„	0,991	„	—	69	—	0,66	—	roh > gek.
10	„	„	„	„	„	„	0,890	„	—	—	68	—	0,55	
11	„	„	„	„	„	„	0,60	„	—	68	—	0,67	—	roh > gek.
12	„	„	„	„	„	„	1,14	„	—	—	68	—	0,20	
13	10	„	„	0,25	„	12 Tg.	0,437	21 Tg.	0,12	55	—	0,22	—	roh > gek.
14	„	„	„	„	„	„	0,980	„	„	—	54	—	0,04	

15	„	„	300	„	„	„	3,47	8 Tg.	„	120	120	0,34	0,25	roh > gek.
16	„	„	80	„	„	„	0,448	21 Tg.	—	46	—	0,485	—	roh = gek.
17	„	„	„	„	„	„	0,276	„	—	—	48	—	0,49	
18	„	„	„	„	„	„	0,420	„	—	50	—	0,34	—	gek. > roh
19	„	„	„	„	„	„	0,300	„	—	—	50	—	0,64	
20	20	0,5 NH_4Cl	50	0,70	„	16 Tg.	0,05	1 Mon.	1,2	43	—	0,024	—	gek. > roh
21	„	„	„	„	„	„	0,029	„	„	—	44	—	0,040	
22	10	0,5 KNO_3	80	0,20	Licht	12 Tg.	0,266	21 Tg.	0,25	60	—	0,17	—	gek. > roh
23	„	„	„	„	„	„	1,25	„	„	—	60	—	1,09	
24	„	„	300	„	„	„	2,48	8 Tg.	„	120	120	0,33	0,65	gek. > roh (vgl. 15)
25	20	0,5 NH_4Cl	200	0,65	dunkel	110 Tg.	0,626	4 Mon.	—	160	—	0,18	—	roh > gek.[3]
26	„	„	„	„	„	„	0,543	„	—	—	160	—	0,000	

[1]) Zwischenkultur von *Aspergillus niger* auf gekochter Flüssigkeit (1,507 g Ernte).

[2]) Zwischenkultur von *Aspergillus niger* auf gekochter Flüssigkeit (0,390 g Ernte).

[3]) Zwischenkultur von *Aspergillus niger* { roh (4,176 g Ernte). gek. (4,336 g Ernte).

Nach Ernte der Zwischenkultur neutralisiert mit normal KOH. Die rohe Flüssigkeit bleibt nach I. Ernte steril stehen.

gewicht in irgend einem Sinne beeinflußt. Obwohl außerordentlich zahlreiche Versuche angesetzt wurden und ich mit allen Kautelen arbeitete, konnte kein endgültiges Resultat erzielt werden. Die Ergebnisse fielen meist widersprechend aus. Bei sehr vielen Kulturen trugen die rohen Anteile der gebrauchten Nährlösung reichlichere Ernten als die gekochten; in andern Teilen war der Ausfall gerade entgegengesetzt. Die Mehrzahl der Versuche spricht für eine Überlegenheit der rohen Anteile auch in denjenigen Fällen, in welchen durch Verwendung geeigneter Kulturgefäße und durch frühzeitiges Abheben zusammenhängender Myzeldecken, die noch nicht zur Sporenbildung übergegangen waren, der Einwand ausgeschlossen werden konnte, daß die Überlegenheit der rohen Lösungen nur eine scheinbare und das Plus des Erntebetrages darauf zurückzuführen wäre, daß beim Abernten des sporentragenden Myzels und beim Filtrieren der rohen Lösungsanteile eine unkontrollierbare Menge von Sporen als unbeabsichtigte Aussaat die Lösung verunreinigte. Ich halte diesen Einwand schon deshalb für wenig berechtigt, weil auf denjenigen rohen Lösungsanteilen, die nach Passieren des sterilisierten Papierfilters sich selbst überlassen wurden, nur sehr spärliche Myzelentwicklung sich erkennen ließ; die von der durch das Papierfilter verschleppten Sporen ausgehende Myzelbildung hätte in keinem Falle hingereicht, um den Ernteüberschuß der rohen Lösungsanteile zu erklären.

Da bei einigen Versuchen die Überlegenheit der rohen Lösungsanteile über die gekochten nicht erkennbar war, vielmehr die gekochten reichlichere Ernten produzierten als die andern, möchte ich auch hier davon Abstand nehmen, meine Ergebnisse in einer definitiven Schlußfolgerung zusammenzufassen. Nachfolgende Zahlenbeispiele geben darüber Aufschluß, um wieviel in einigen meiner Kulturen die auf den rohen geernteten Myzelmassen diejenigen übertrafen, welche auf den gekochten Lösungen gewachsen waren:

roh	0,57 g
gekocht	0,02 g
roh	1,228 g
gekocht	0,000 g

Zusammenfassung.

1. In Nährlösungen der verschiedensten Zusammensetzung werden von einigen Pilzen *(Aspergillus niger, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Fusarium Solani, Mucor Mucedo, Penicillium glaucum, Rhizopus nigricans)* im Verlaufe ihrer Entwicklung Stoffe gebildet, welche hemmend oder fördernd auf die Keimung derselben einwirken.

2. Uber ihre chemische Natur läßt sich nichts aussagen. Wir können nicht einmal entscheiden, ob es sich immer nur um einen oder um mehrere Stoffe handelt.

3. Mit enzymatisch wirkenden Körpern teilen diese Stoffwechselprodukte die Eigentümlichkeit, daß sie durch höhere Temperaturen (80 bis 100° C) zerstört oder mindestens vorübergehend beeinträchtigt werden.

4. Durch Verdünnung wird ihre Wirkung aufgehoben, und zwar bedurfte es in der Regel einer Verdünnung mit dem 20fachen Volumen destill. Wasser.

5. In weißem Lichte, vor allem bei direkter Besonnung (ca. 20 Stunden) werden diese Stoffe zerstört; am wirksamsten hierbei sind die violetten Strahlen. (Versuche mit Senebierschen Glocken.)

6. Bei manchen Nährlösungen sind nach Passage durch Tonfilter die Stoffe im Filtrat nicht mehr nachweisbar, bei andern Lösungen werden sie vom Filter nicht zurückgehalten.

7. In Kulturen, welche am Licht sich entwickelt hatten, entstehen wachstumsfördernde Stoffe, welche hohen Temperaturen gegenüber sich ebenso verhalten wie die wachstumshemmenden (s. 3).

8. In gebrauchten Nährlösungen von *Fusarium Solani* und vielleicht auch in solchen von *Aspergillus niger* treten Stoffe auf, welche die Weiterentwicklung dieser Organismen in günstigem Sinne beeinflussen d. h. die Myzelproduktion beschleunigen.

9. Die von bestimmten Pilzen (s. 1) produzierten wachstumshemmenden resp. fördernden Stoffwechselprodukte, welche durch Kochen zerstört werden, haben keine spezifische Wirkung in dem Sinne, daß sie immer nur auf Keimung und Wachstum derselben Pilzspezies Einfluß hätten; sie wirken auch auf die Sporen anderer Pilze.

Separat-Abdruck aus Annales Mycologici, Jahrg. 1909, Bd. VII, p. 91—133.

Lebenslauf.

Am 14. November 1881 wurde ich, Otto Lutz, als Sohn des Lehrers G. Lutz in Pflugfelden O.-A. Ludwigsburg (Württemberg) geboren. Im Jahre 1886 starb meine Mutter, 1888 der Vater. Meine Erziehung leitete nach dem Tode der Eltern mein Schwager. Von 1890—96 besuchte ich die Volksschule in Stuttgart, 1896—98 die Kgl. Präparandenanstalt in Eßlingen a. N., 1898—1901 das Kgl. Lehrerseminar in Nürtingen, das ich nach Ablegung der ersten Dienstprüfung für den Volksschuldienst verließ. 1901—02 war ich als Lehrer in Besigheim tätig. Von 1902—04 widmete ich mich in Unter- und Oberprima der Friedrich-Eugens-Oberrealschule Stuttgart der Vorbereitung für die Reifeprüfung, die ich Michaelis 1904 dort ablegte. 1904—05 genügte ich meiner Militärpflicht. Das erste Semester studierte ich neuere Sprachen an der Universität Berlin, um in den drei folgenden mich dem Studium der Naturwissenschaften zu widmen. 1907 setzte ich dasselbe an der Universität Halle fort.